

## Bilirubin DPD

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. No.	Bottle	Contents	704	717	737	747	902	904	911 912	914	917	MODULAR P	D
1552414	1	Detergent/hydrochloric acid, 9 x 62 ml											
	2	Diazo reagent, 9 bottles of granulate for 15.5 ml each									●		
1489194	1	Detergent/hydrochloric acid, 12 x 50 ml	●				●	●	●				
	2	Diazo reagent, 6 bottles of granulate for 22 ml each											
1489429	1	Detergent/hydrochloric acid, 6 x 100 ml		●				●	●				
	2	Diazo reagent, 3 bottles of granulate for 46 ml each											

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche representative.

### Intended use

For the in vitro quantitative determination of total bilirubin in serum and plasma of adults and newborn on automated clinical chemistry analyzers.

### Summary<sup>1-4</sup>

Bilirubin is produced during normal and abnormal degradation of erythrocytes in the reticuloendothelial system. Bilirubin determinations are made use of in the diagnosis of liver diseases, the detection of hemolytic anemia and in the assessment of the degree of severity of jaundice.

Since the introduction of the diazo method for determining bilirubin by Ehrlich in 1883<sup>1</sup>, a number of modifications for improving the reaction have been proposed. In the Malloy-Evelyn method<sup>2</sup>, methanol is used as a catalyst for the azo-coupling of indirect bilirubin. In addition it keeps azobilirubin in solution. A serious disadvantage of this method is that protein can be precipitated by the methanol, thus possibly leading to falsely depressed values.

In 1938, Jendrassik and Grof<sup>3</sup> presented a test yielding reliable results. However, this method is time-consuming and involves a number of pipetting steps.

The determination presented here corresponds to the method developed by Wahlefeld et al<sup>4</sup> in which a detergent is used to accelerate the reaction and prevent the precipitation of protein. The diazo reagent used is 2,5-dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborate (DPD), which under acidic conditions couples very rapidly with bilirubin. The procedure is simple and correlates well with the Jendrassik-Grof method.

### Test principle<sup>4</sup>

Colorimetric assay

- Sample and addition of R1 (detergent/hydrochloric acid)
- Addition of R2 (diazo reagent) and start of the reaction:  
Indirect bilirubin is liberated by the detergent. In strong acid solution containing 2,5-dichlorophenyl diazonium salt, total bilirubin couples to form azobilirubin.



The color intensity of the red azo dye formed is directly proportional to the total bilirubin and can be determined photometrically.

### Working solution concentration

**R1** Detergent/hydrochloric acid

Detergent; hydrochloric acid: 120 mmol/l

**R2** Diazo reagent

2,5-dichlorophenyl diazonium salt: 3.0 mmol/l

### Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

**CAUTION. WARNING.** Bottle 1 contains hydrochloric acid which can cause caustic burns. Avoid contact with eyes, skin and mucous membranes. Flush affected areas with copious amounts of water. Get immediate medical attention for eyes, or if inhaled or ingested.

### Reagent handling

1552414/1489194/1489429

R1: Contents are ready for use

1552414/1489194

R2: Add approximately 10 ml of dist. water to one bottle 2 and dissolve the granulate by swirling the bottle gently. Make up to the mark with distilled water and mix. Do not stopper the bottle containing diazo reagent solution with a desiccant cap.

1489429

R2: Add approximately 30 ml of dist. water to one bottle 2 and dissolve the granulate by swirling the bottle gently. Make up to the mark with distilled water and mix. Do not stopper the bottle containing diazo reagent solution with a desiccant cap.

### Storage and stability

Unopened kit components: Up to the expiration date at 2–8°C

R1: 42 days opened and refrigerated on the analyzer

R2: 14 days opened and refrigerated on the analyzer

### Specimen collection and preparation

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparin or EDTA plasma

Stability<sup>5</sup>: Store samples protected from light. Perform the assay immediately.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

### Testing procedure

*Materials supplied*

- Working solution as described above.

*Additional materials required*

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

### Assay

Refer to the appropriate operator's manual and/or the Instrument Settings section of this insert for analyzer specific assay instructions. The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

### Calibration

Standardization<sup>6</sup>: The bilirubin method has been calibrated against the "Dourmas candidate reference method"/SRM 916a.

S1: 0.9% NaCl

S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems)

Calibration frequency

Recalibration is recommended:

- as a blank calibration after 24 hours
- as a blank calibration after reagent bottle change
- as a two point calibration after reagent lot change
- as a two point calibration if required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary

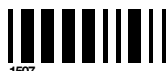
### Quality control

For quality control, use Precinorm U, Precinorm U plus, Precipath U, Precipath U plus, Precibil or other suitable control material. The control intervals and limits should be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

### Calculation

Roche/Hitachi systems automatically calculate the total bilirubin concentration of each sample.

Conversion factor: mg/dl x 17.1 = μmol/l



## Limitations – interference<sup>10,11</sup>

Occasionally, somewhat higher values for direct bilirubin than for total bilirubin may be yielded by samples in which the total and direct bilirubin concentrations are similar. In such samples, the bilirubin concentration determined by both methods should be stated.

Criterion: Recovery within  $\pm 10\%$  of initial value.

Lipemia interferes.

Hemolysis interferes in samples from adults. Hemolysis (up to approx. 350 mg/dl hemoglobin) does not cause interference in neonatal samples.<sup>8,9</sup>

Indican: No significant interference by indican up to concentrations of 0.2 mmol/l. At higher indican concentrations, which can occur in renal failure, spuriously elevated bilirubin values are measured.

The effect of 18 commonly used pharmaceuticals was tested in vitro. Of these, only cyclosporine at therapeutic concentrations led to lower recovery figures (values approximately 10% depressed).

## Measuring/reportable range

0.1–30 mg/dl or 1.71–315  $\mu\text{mol/l}$

Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with higher concentrations using 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 3). Multiply the result by the appropriate factor (e.g. 4).

## Reference range

Reference range according to Thomas

Total bilirubin<sup>10</sup>: up to 1.1 mg/dl or 18.8  $\mu\text{mol/l}$

Reference range according to Sherlock and Meites

Adults and children<sup>11</sup>: up to 1.0 mg/dl or 17.1  $\mu\text{mol/l}$

Newborn<sup>12</sup>

Age of newborn	Premature
24 hours	1.0–6.0 mg/dl or 17.1–102.6 $\mu\text{mol/l}$
48 hours	6.0–8.0 mg/dl or 102.6–136.8 $\mu\text{mol/l}$
3–5 days	10.0–15.0 mg/dl or 171–256.5 $\mu\text{mol/l}$
Age of newborn	Full term
24 hours	2.0–6.0 mg/dl or 34.2–102.6 $\mu\text{mol/l}$
48 hours	6.0–7.0 mg/dl or 102.6–119.7 $\mu\text{mol/l}$
3–5 Tage	4.0–12.0 mg/dl or 68.4–205.2 $\mu\text{mol/l}$

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, total bilirubin results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

## Specific performance data

The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

## Imprecision<sup>6</sup>

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 21). The following results were obtained.

Sample	Within run			Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV
Human serum	2.1	0.026	1.3	2.1	0.041	1.9
Precinorm U	2.1	0.038	1.8	2.1	0.044	2.1
Precipath U	5.0	0.060	1.2	5.0	0.079	1.6

## Analytical sensitivity<sup>6</sup>

0.1 mg/dl or 1.71  $\mu\text{mol/l}$

The lower detection limit represents the lowest measurable total bilirubin concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

## Method comparison<sup>6</sup>

A comparison of the bilirubin assay using Roche Bilirubin DPD granulate reagent (y) with Roche Bilirubin DPD lyophilized reagent (x) on a Roche/Hitachi 704 analyzer gave the following correlation (mg/dl):

Passing/Bablok <sup>13,14</sup>	Linear regression
$y = 0.017 + 1.023 x$	$y = -0.009 + 1.031 x$
$r = 1.000$	$r = 1.000$
SD (md 95) = 0.104	Sy.x = 0.054

Number of samples measured: 50

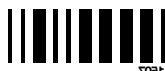
The activities of the samples were between 0.19 and 14.29 mg/dl.

## Please note

The determination can also be performed at 25°C or 30°C.

## References

- Ehrlich P. Charite Ann 1883;8:140.
- Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937;119:481–490.
- Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Bilirubins. Biochem Z 1938;297:81–89.
- Wahlefeld AW, Herz G, Bernt E. Modification of the Malloy-Evelyn method for a simple, reliable determination of total bilirubin in serum. Scand J clin Lab Invest 1972;29 Supplement 126:Abstract 11.12.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:88.
- Data on file.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
- Mazzachi BC, Peake MJ. How reliable is the Hitachi DPD bilirubin method? Poster Presentations. Clin Biochem Revs 1995;16:73.
- Schlebusch H, Schneider C, Liappis N et al. Bilirubin determinations in neonatal sera: precision, accuracy and sensitivity to hemoglobin interference of six routine methods. AACC Poster Abstract. Clin Chem 1995;41 Supplement S6:S95.
- Thomas H, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992:235.
- Sherlock S. Liver Disease. London: Churchill, 1951.
- Meites S. Pediatric Clinical Chemistry: A Survey of Normals, Methods, and Instrumentation, with Commentary. Washington, DC: 1977:48.
- Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



## Instrument settings

### Roche/Hitachi 917

Read in the application parameters from the application diskette or barcode sheet, as appropriate.

### Roche/Hitachi 704

Temperature: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[BIL-T]
ASSAY CODE	[2(2POINT)]-[15]-[32]
SAMPLE VOLUME	[10]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[20]-[NO]
WAVELENGTH	[660]-[570]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNIT	[ ]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0]-[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]-[UPPER]
EXPECTED VALUE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

\_\_\_ Data entered by the operator

### Roche/Hitachi 717

Temperature: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[BIL-T]
ASSAY CODE	[2(2POINT)]-[24]-[50]
SAMPLE VOLUME	[7]-[3]
R1 VOLUME	[250]-[100]-[NO]
R2 VOLUME	[50]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[660]-[570]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0]-[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]-[UPPER]
EXPECTED VALUE	[ ]-[ ]
PANIC VALUE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

\_\_\_ Data entered by the operator

### Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	BIL-T
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	17
6	Assay Point 2	35
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	700
10	Wavelength (MAIN)	570
11	Sample Volume	7.0
12	R1 Volume	250
13	R1 Pos.	.....
14	R1 Bottle Size	Large
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	50
19	R3 Pos.	.....
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....
25	Calib. Conc. 2	.....
26	Calib. Pos. 2	.....
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0
33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS.	0
36	K Factor	10000
37	K2 Factor	10000
38	K3 Factor	10000
39	K4 Factor	10000
40	K 5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	35
46	Sens. Limit	240
47	S1ABS. Limit (L)	-32000
48	S1ABS. Limit (H)	32000
49	ABS. Limit	0
50	ABS. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	32000
52	Proz Limit (Upp/Low)	Upper
53	Prozone (End Point)	35
54	Expect. Value (L)	.....
55	Expect. Value (H)	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0
58	Key Setting	.....

.... Data entered by the operator



For detailed information, consult the operator manuals for Roche/Hitachi systems, the respective application sheets and the package inserts for the calibrators and control sera. Precinorm, Precipath and Precibil are trademarks of a member of the Roche Group.  
©1999 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany  
Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA  
US Customer Technical Support 1-800-428-2336

December 1999



Bilirrubina DPD

Produto registado no INFARMED

● Indica os analisadores Roche/Hitachi nos quais os kits podem ser utilizados

Ref.	Frasco	Conteúdo	704	717	737	747	902	904	911 912	914	917	MODULAR P D
1552414	1	Detergente/ácido clorídrico, 9 x 62 ml									●	
	2	Reagente Diazo, 9 fr. de granulado para 15,5 ml										
1489194	1	Detergente/ácido clorídrico, 12 x 50 ml	●				●	●	●			
	2	Reagente Diazo, 6 fr. de granulado para 22 ml										
1489429	1	Detergente/ácido clorídrico, 6 x 100 ml		●				●	●			
	2	Reagente Diazo, 3 fr. de granulado para 46 ml										

Alguns dos analisadores e kits podem não ser comercializados em todos os países. Para outras aplicações de sistema, contacte o seu representante local da Roche Diagnostics.

## Função

Para determinação quantitativa *in vitro* da bilirrubina total em soro e plasma de adultos e recém-nascidos, utilizando analisadores automáticos de química clínica.

## Características<sup>1-4</sup>

A bilirrubina é produzida durante a degradação, quer normal quer anómala, de eritrócitos no sistema retículo-endotelial. As determinações de bilirrubina são utilizadas no diagnóstico de doenças hepáticas, na detecção de anemia hemolítica e na avaliação do grau de gravidade da icterícia.

Desde a introdução, em 1883<sup>1</sup>, por Ehrlich, do método de Diazo para determinação da bilirrubina, têm sido propostas uma série de modificações para melhoramento da reacção. No método de Malloy-Evelyn,<sup>2</sup> utiliza-se metanol como catalisador para o azo-acoplamento da bilirrubina indirecta. Além disso, mantém a azobilirrubina em solução. A grande desvantagem deste método prende-se com o facto de esta proteína ser precipitada pelo metanol levando possivelmente a valores falsamente baixos.

Em 1938, Jendrassik e Grof<sup>3</sup> apresentaram um teste que dava origem a resultados fiáveis. No entanto, este é um método moroso que envolve um grande número de etapas de pipetagem.

A determinação aqui apresentada corresponde ao método desenvolvido por Wahlefeld et al<sup>4</sup>, no qual se emprega um detergente para acelerar a reacção e prevenir a precipitação da proteína. O reagente diazo utilizado é o 2,5-diclorofenil diazómio tetrafluoroborato (DPD) que, em condições ácidas, se acopla muito rapidamente à bilirrubina. Este procedimento é simples e correlaciona-se com o método de Jendrassik-Grof.

## Princípio do teste<sup>4</sup>

Ensaio colorimétrico

- Amostra e adição do R1 (detergente/ácido clorídrico)
- Adição do R2 (diazó-reagente) e início da reacção:  
A bilirrubina indirecta é libertada pelo detergente. Em solução fortemente ácida contendo sal de 2,5-diclorofenil-diazómio, a bilirrubina directa acopla-se e forma azobilirrubina.

bilirrubina + ião diazómio → azobilirrubina

A intensidade da cor do corante azo vermelho formado é directamente proporcional à bilirrubina total e pode ser determinada fotometricamente.

## Concentração das soluções de trabalho

- R1 Detergente/ácido clorídrico  
Detergente; ácido clorídrico: 120 mmol/l
- R2 Reagente diazo  
Sal de 2,5-diclorofenil-diazómio: 3,0 mmol/l

## Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Aviso: O frasco 1 contém ácido clorídrico que pode causar queimaduras cáusticas. Evite qualquer contacto com os olhos, a pele e as mucosas. Na eventualidade de contacto, lave todas as zonas afectadas com água em abundância. Contacte imediatamente um médico após contacto com os olhos ou após a ingestão ou inalação do reagente.

## Preparação dos reagentes

1552414/1489194/1489429

R1: O conteúdo está pronto a ser utilizado

1552414/1489194

R2: Adicione água destilada (cerca de 10 ml) a um frasco 2 e dissolva o granulado rodando suavemente o frasco. Preencha com água destilada até às marcas e misture bem. Não feche o frasco que contém a solução de reagente diazo com uma tampa dessecante.

1489429

R2: Adicione água destilada (cerca de 30 ml) a um frasco 2 e dissolva o granulado rodando suavemente o frasco. Preencha com água destilada até às marcas e misture bem. Não feche o frasco que contém a solução de reagente diazo com uma tampa dessecante.

## Conservação e estabilidade

Componentes do kit fechado: a 2–8°C, até ao fim do prazo de validade indicado

R1: 42 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 14 dias aberto e refrigerado no analisador

## Colheita e preparação das amostras

Obtenha soro utilizando tubos de amostra standard.

Plasma em heparina ou EDTA.

Estabilidade<sup>5</sup>: Mantenha as amostras ao abrigo da luz. Realize imediatamente o doseamento.

Centrifugue as amostras que contêm precipitado antes da realização do doseamento.

## Componentes do teste

Material fornecido

- Soluções de trabalho conforme descritas acima.
- Outros materiais necessários
- Calibradores e controlos, conforme indicado abaixo
- Solução de cloreto de sódio (0,9%)

## Realização do ensaio

Consulte o manual do operador apropriado e/ou a secção relativa às definições do analisador desta bula para obter instruções mais específicas sobre o analisador. Quando se executam aplicações não validadas pela Roche, esta não garante os resultados, pelo que esses ensaios devem ser definidos pelo utilizador.

## Calibração

Padronização<sup>6</sup>: O método da bilirrubina foi calibrado com o "método de referência candidato Dumas"/SRM 916a.

S1: Solução de cloreto de sódio (0,9%)

S2: C.f.a.s. (Calibrados para sistemas automáticos)

Frequência da calibração

Recomenda-se a realização de uma recalibração:

- calibração com branco após 24 horas
  - calibração com branco após mudança de frasco do reagente
  - calibração de dois pontos após mudança do lote do reagente
  - calibração de dois pontos se necessário, de acordo com os procedimentos de controlo de qualidade
- Não é necessária uma verificação da calibração

## Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize Precinorm U, Precinorm U plus, Precipath U, Precipath U plus e Precibil ou outros materiais de controlo adequados. Os intervalos e os limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório e aos requisitos específicos de cada país. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites estabelecidos. Cada laboratório deverá estabelecer as suas próprias normas no que diz respeito às medidas correctivas a tomar se os valores se situarem fora dos limites.

## Cálculo

Os sistemas Roche/Hitachi calculam automaticamente a actividade da enzima colinesterase alcalina de cada amostra.

Factor de conversão: mg/dl x 17,1 = µmol/l



## Limitações – interferências<sup>10,11</sup>

Ocasionalmente, as amostras com concentrações semelhantes de bilirrubina total e bilirrubina directa podem gerar valores ligeiramente mais elevados de bilirrubina directa do que de bilirrubina total. Nestas amostras, deve ser indicada a concentração de bilirrubina determinada por ambos os métodos.

Critério: recuperação a  $\pm 10\%$  do valor inicial.

A lipemia interfere.

A hemólise não interfere com amostras de adultos. A hemólise (até aprox. 350 mg/dl de hemoglobina) não interfere com as amostras de recém-nascidos.<sup>8,9</sup>

Indikan: Não foi detectada qualquer interferência significativa até concentrações de Indikan de 0,2 mmol/l. Com concentrações mais elevadas de Indikan, obtêm-se valores de bilirrubina falsamente elevados. Essas concentrações de Indikan só se verificam nos casos de insuficiência renal.

O efeito de 18 fármacos vulgarmente utilizados foi testado *in vitro*. Destes, apenas a ciclosporina em concentrações terapêuticas provocou uma redução dos valores de recuperação (uma redução dos valores em cerca de 10%).

## Intervalo de medição

0,1–30 mg/dl ou 1,71–315  $\mu\text{mol/l}$

Determine as amostras com concentrações superiores através da função de reanálise. Nos instrumentos sem esta função, dilua manualmente as amostras com concentrações superiores, utilizando NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p. ex. 1 + 3). Multiplique o resultado pelo factor adequado (p. ex. 4).

## Intervalo de referência

Intervalo de referência segundo Thomas

Bilirrubina total:<sup>10</sup> até 1,1 mg/dl ou 18,8  $\mu\text{mol/l}$

Intervalos de referência segundo Sherlock e Meites

Adultos e crianças:<sup>11</sup> até 1,0 mg/dl ou 17,1  $\mu\text{mol/l}$

Recém-nascidos<sup>12</sup>

Idade do recém-nascido Prematuro

24 horas 1,0–6,0 mg/dl ou 17,1–102,6  $\mu\text{mol/l}$

48 horas 6,0–8,0 mg/dl ou 102,6–136,8  $\mu\text{mol/l}$

3–5 dias 10,0–15,0 mg/dl ou 171–256,5  $\mu\text{mol/l}$

Idade do recém-nascido De termo

24 horas 2,0–6,0 mg/dl ou 34,2–102,6  $\mu\text{mol/l}$

48 horas 6,0–7,0 mg/dl ou 102,6–119,7  $\mu\text{mol/l}$

3–5 dias 4,0–12,0 mg/dl ou 68,4–205,2  $\mu\text{mol/l}$

Cada laboratório deve verificar se os valores teóricos podem ser aplicados à sua própria população de doentes e, se necessário, determinar os seus próprios valores de referência. Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados da bilirrubina total devem sempre ser interpretados em conjunto com a anamnese do doente, exames clínicos e outros resultados.

## Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados determinados utilizando um sistema Roche/Hitachi. Os resultados obtidos podem diferir de laboratório para laboratório.

## Imprecisão<sup>6</sup>

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos, segundo um protocolo interno (n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados.

Amostra	Intra-série			Entre dias		
	Média mg/dl	SD mg/dl	%CV	Média mg/dl	SD mg/dl	%CV
Soro humano	2,1	0,026	1,3	2,1	0,041	1,9
Precinorm U	2,1	0,038	1,8	2,1	0,044	2,1
Precipath U	5,0	0,060	1,2	5,0	0,079	1,6

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)

CV = coeficiente de variação

## Sensibilidade analítica<sup>6</sup>

0,1 mg/dl ou 1,71  $\mu\text{mol/l}$

O limite de detecção inferior representa a actividade da enzima colinesterase mais baixa passível de ser distinguida de zero. É calculado como três desvios-padrão de 21 repetições do padrão mais baixo.

## Comparação dos métodos<sup>6</sup>

Uma comparação do doseamento da bilirrubina utilizando o reagente granulado DPD bilirrubina da Roche (y) com o doseamento do liofilizado DPD bilirrubina da Roche num analisador Roche/Hitachi 704 (x) teve como resultado as seguintes correlações (mg/dl):

Passing/Bablok<sup>13,14</sup>

$y = 0,017 + 1,023 x$

$r = 1,000$

SD (md 95) = 0,104

Número de amostras medidas: 50

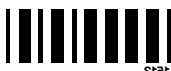
As actividades das amostras situaram-se entre 0,19 e 14,29 mg/dl.

## Nota

A determinação pode ser também realizada a 25°C ou 30°C.

## Bibliografia

- Ehrlich P. Charite Ann 1883;8:140.
- Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937;119:481–490.
- Jendrossik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Bilirubins. Biochem Z 1938;297:81–89.
- Wahlefeld AW, Herz G, Bernt E. Modification of the Malloy-Evelyn method for a simple, reliable determination of total bilirubin in serum. Scand J Clin Lab Invest 1972;29 Supplement 126:Ab-stract 11.12.
- Tietz NW (Ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3ª edição, Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:88.
- Documentação da Roche.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
- Mazzachi BC, Peake MJ. How reliable is the Hitachi DPD bilirubin method? Poster Presentations. Clin Biochem Revs 1995;16:73.
- Schlebusch H, Schneider C, Liappis N et al. Bilirubin determinations in neonatal sera: precision, accuracy and sensitivity to hemoglobin interference of six routine methods. AACC Poster Abstract. Clin Chem 1995;41 Supplement S6:S95.
- Thomas H (Ed.). Labor und Diagnose, 4. Auflage. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992:235.
- Sherlock S. Liver Disease. London: Churchill, 1951.
- Meites S. Pediatric Clinical Chemistry: A Survey of Normals, Methods, and Instrumentation, with Commentary. Washington, DC: 1977:48.
- Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



## Programação dos analisadores

### Roche/Hitachi 917

Introduza os parâmetros da aplicação a partir da disquete da aplicação ou da folha com o código de barras, conforme mais adequado.

### Roche/Hitachi 704

Temperatura: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETER	
TEST	[BIL-T]
ASSAY CODE	[2(2POINT)]-[15]-[32]
SAMPLE VOLUME	[10]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[20]-[NO]
WAVELENGTH	[660]-[570]
CALIB. TYPE	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNIT	[ ]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]-[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]-[UPPER]
NORMAL RANGE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

\_\_\_ Dados introduzidos pelo operador

### Roche/Hitachi 717

Temperatura: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[BIL-T]
TEST METHOD	[2(2POINT)]-[24]-[50]
SAMPLE VOLUME	[7]-[3]
R1 VOLUME	[250]-[100]-[NO]
R2 VOLUME	[50]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[660]-[570]
CALIBRATION	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0]-[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]-[UPPER]
NORMAL RANGE	[ ]-[ ]
ALARM RANGE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

\_\_\_ Dados introduzidos pelo operador

## Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	BIL-T
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	17
6	Assay Point 2	35
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	700
10	Wavelength (MAIN)	570
11	Sample Volume	7.0
12	R1 Volume	250
13	R1 Pos.	.....
14	R1 Bottle Size	Large
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	50
19	R3 Pos.	.....
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....
25	Calib. Conc. 2	.....
26	Calib. Pos. 2	.....
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0
33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS.	0
36	K Factor	10000
37	K2 Factor	10000
38	K3 Factor	10000
39	K4 Factor	10000
40	K 5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	35
46	Sens. Limit	240
47	S1ABS. Limit (L)	-32000
48	S1ABS. Limit (H)	32000
49	ABS. Limit	0
50	ABS. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	32000
52	Proz Limit (Upp/Low)	Upper
53	Prozone (End Point)	35
54	Expect. Value (L)	.....
55	Expect. Value (H)	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0
58	Key Setting	.....

.... Dados introduzidos pelo operador

Para mais informações, consulte os manuais do operador dos sistemas Roche/Hitachi, as folhas da aplicação respectiva, e as bulas dos calibradores e dos soros de controlo.

Fabricado por:  
Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha  
Distribuidor em Portugal:  
Roche Farmacêutica Química, Lda, 2700 Amadora

Dezembro 1999

