Residência RP Pediátrica
Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Pediatria
ISSN-Online: 2236-6814

Data de Submissão: 06/02/2020
Data de Aprovação: 22/11/2020

ARTIGO ORIGINAL

Comparação entre a dosagem laboratorial e capilar de bilirrubina

Comparison of laboratory and capillary bilirubin measurement

Maria das Graças Cunha Leite[1], Renata Silveira Arruda Moura[1]

Descritores:
Icterícia,
Bilirrubina,
Dosagem,
Hiperbilirrubinemia Neonatal.

Resumo

Objetivos: Comparar a dosagem de bilirrubina total pelo método colorimétrico laboratorial através da tradicional coleta de sangue venoso e a dosagem pela espectrofotometria direta de sangue capilar a fim de avaliar a concordância entre os dois métodos. **Métodos:** A dosagem laboratorial de bilirrubina nos neonatos ictéricos foi realizada no laboratório pelo Cobas Integra 400 plus-Roche e a dosagem capilar foi realizada pelo bilirrubinômetro Toitu BL-200 através de leitura espectrofotométrica do plasma obtido após centrifugação do sangue. A dosagem capilar foi realizada na própria unidade neonatal pelo médico assistente, sendo obtidas 82 dosagens pareadas coletadas concomitantemente. **Resultados:** A média da bilirrubinemia sérica foi de 11,9mg/dl, enquanto que a média da dosagem capilar foi de 9,2mg/dl. A média da diferença entre os dois métodos foi de -2,73mg/dl, sendo que todos os valores da dosagem capilar foram menores que o valor da dosagem sérica. Como esta diferença foi estatisticamente significante, foi feita analise por regressão linear onde R2 = 0,88, com equação y = 1,29 x - 0,012 (sendo "y" a dosagem laboratorial e "x" a capilar). **Conclusão:** Apesar de existir diferença significante entre os dois métodos, por ser a dosagem capilar tecnicamente mais fácil e rápida, sugerimos que poderá ser usada na pratica clínica diária, sendo multiplicado seu valor por 1,3mg/dl, a fim de que possamos usá-la no manejo clinico dos neonatos ictéricos, reservando a dosagem laboratorial para as situações onde a demora do resultado do exame não seja um inconveniente para o paciente.

Headings:
Jaundice,
Bilirubin,
Dosage,
Hyperbilirubinemia,
Neonatal.

Abstract

Objectives: To compare the total bilirubin measurement by the laboratory colorimetric method through the traditional venous blood collection and the direct spectrophotometry of capillary blood in order to evaluate the agreement between the two methods. **Methods:** Bilirubin laboratory measurement in icteric newborns was performed in the laboratory by Cobas Integra 400 plus-Roche and capillary measurement was performed by the Toitu BL-200 bilirubinometer by spectrophotometric reading of the plasma obtained after centrifugation of blood. This capillary measurement was performed in the neonatal unit itself by the attending physician, and 82 paired assays were collected concomitantly. **Results:** Mean serum bilirubinemia was 11.9mg/dL while mean capillary measurement was 9.2mg/dL. The mean difference between the two methods was -2.73mg/dl, with all capillary values being lower than the serum. As this difference was statistically significant, linear regression analysis was performed in which R2 = 0.88 with the equation y = 1.29 and x = 0.012 (where "y" was the laboratory measurement and "x" the capillary values). **Conclusion:** Although there is a significant difference between the two bilirubinemia measurement methods, because the capillary is technically easier and faster, we suggest that can be used in daily clinical practice and its value is multiplied by 1.3 mg/dl, so that we can use it in the clinical management of icteric newborns, reserving the laboratory blood measurement for situations where the delay of the test result is not inconvenient for the patient.

[1] Universidade Federal do Triangulo Mineiro, Pediatria - Uberaba - Minas Gerais - Brasil

Endereço para correspondência:
Maria das Graças Cunha Leite.
Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Av. Frei Paulino, 30 - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba, MG, Brasil. CEP: 38025-180 E-mail: lmgcleite@gmail.com

INTRODUÇÃO

O acompanhamento da icterícia neonatal através da dosagem de bilirrubinas é de extrema importância por ser uma avaliação clínica muito subjetiva[1]. A adequada monitorização da bilirrubinemia é imprescindível na prevenção da disfunção neurológica causada pela impregnação cerebral de bilirrubina, a chamada encefalopatia bilirrubínica[2].

A hiperbilirrubinemia indireta, presente em cerca de 80% dos neonatos, é quase sempre benigna, porém uma série de fatores agravantes podem se superajuntar com a elevação transitória dos níveis de bilirrubina após o nascimento[3]. Frente a um recém-nascido ictérico, faz necessária a monitorização da bilirrubinemia para avaliar a necessidade de tratamento fototerápico[4].

A cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) é o padrão-ouro da dosagem laboratorial e identifica 4 frações: 1) indireta ou fração α: aquela que não sofre conjugação hepática; 2) monoglicuronídeo ou fração β: que sofreu conjugação apenas com uma molécula de ácido glicurônico; 3) diglicuronídeo ou fração γ: que já foi conjugada com duas moléculas deste ácido; e 4) biliproteína ou fração δ fração de reação direta, mas não produzida por reação enzimática, ligada permanentemente à albumina. Este método laboratorial não é usado rotineiramente na prática clínica devido à sua alta complexidade e custo elevado[5,6].

A clássica reação laboratorial do método diazo usa um reagente para dosar primeiro a bilirrubina direta, depois a bilirrubina total e, pela diferença, encontra-se a bilirrubina indireta. Este método tem a desvantagem de necessitar de pipetagem e usar vários reagentes, além do grande tempo despendido até a completa realização do exame[6,7].

Um método já bastante utilizado é a espectrofotometria direta através da leitura pelo bilirrubinômetro. O sangue é coletado através de punção no calcanhar em tubos que devem conter heparina em uma de suas extremidades para evitar coagulação do sangue e permitir a separação do soro das hemácias por centrifugação. Após a centrifugação e separação do plasma, o tubo capilar é colocado no bilirrubinômetro e analisado. Este método tem a grande vantagem de necessitar apenas 20µl de sangue e ainda apresenta um coeficiente de variabilidade dos resultados menor que 5%[6]. No período neonatal, a grande maioria da hiperbilirrubinemia é causada pela fração não conjugada, sendo a utilização do bilirrubinômetro plenamente satisfatória.

A dosagem de bilirrubina realizada em laboratórios tem grande variabilidade de resultados, dependendo do método escolhido e da sua padronização de aferição. O uso de padrões calibradores inadequados é citado como a principal causa da variabilidade destes resultados[8,9].

O desenvolvimento de técnicas não-invasivas na dosagem de bilirrubina tornou ainda mais fácil o acompanhamento diário dos níveis de bilirrubina, tendo como vantagem a diminuição de dor pela coleta de sangue, diminuindo assim o risco de infecções. Atualmente é um método bem utilizado e motivo de diversos trabalhos que visam comparar sua concordância com a dosagem realizada em sangue periférica ou capilar[10]. Os bilirrubinômetros transcutâneos, usam a técnica da refletância espectral. Funcionam devido à emissão de um feixe de luz branca através da pele do recém-nascido, medindo a intensidade dos comprimentos de onda que retornam. A absorção da luz pela bilirrubina é avaliada após serem devidamente deduzidas as absorções pelo colágeno, melanina e hemoglobina. A concentração de bilirrubina é obtida pela diferença da absorção dos mesmos[11].

Atualmente, em nosso serviço é realizada rotineiramente a dosagem de bilirrubinas totais e frações pelo laboratório, através do método colorimétrico pelo Cobas Integra 400 plus-Roche. Temos agora à disposição do serviço, uma microcentrífuga e um bilirrubinômetro Toitu modelo BL-200 para dosagem capilar. Não dispomos ainda do bilirrubinômetro transcutâneo.

O objetivo do presente estudo é comparar as dosagens sanguíneas de bilirrubina realizadas pelo laboratório com as dosagens de bilirrubina total plasmática colhidas em capilar e realizadas pelo bilirrubinômetro Toitu BL-200, em neonatos.

MÉTODOS

O estudo foi realizado no período de fevereiro a novembro de 2018. Neste período, foram incluídos todos os recém-nascidos em alojamento conjunto que apresentaram icterícia com necessidade de coleta sanguínea. Trata-se de um estudo prospectivo e comparativo para validação de teste diagnóstico. O objetivo foi avaliar a concordância entre a dosagem de bilirrubinas realizada pelo laboratório através do método colorimétrico pelo Cobas Integra 400 plus-Roche e a dosagem realizada pelo bilirrubinômetro Bilirubin meter Toitu BL-200 através de leitura espectrofotométrica.

O número de dosagens pareadas foi de 82, realizadas em 71 neonatos ictéricos internados em regime de alojamento conjunto. O cálculo do tamanho amostral foi realizado considerando o desenho do estudo (validação de teste diagnóstico), uma diferença absoluta desejada entre as sensibilidades amostral e populacional dos testes de 7% e erro tipo I a de 0,05[12].

Os recém-nascidos internados em alojamento conjunto eram incluídos no estudo se apresentassem icterícia clínica com indicação de dosagem de bilirrubina pelo médico assistente. O sangue foi coletado através de punção periférica sendo uma amostra imediatamente enviada ao laboratório e outra amostra coletada em tubo capilar, que foi imediatamente colocado na centrifuga de bancada microhemato Modelo 2410 – FANEM para separação do plasma (Figura 1). Posteriormente o tubo capilar era colocado no bilirrubinômetro Bilirubin meter Toitu BL-200 (Figura 2) para leitura da bilirrubinemia total, sendo realizada pelo pesquisador na própria unidade de alojamento conjunto.

As variáveis estudadas foram a dosagem capilar (dependente) e a dosagem laboratorial (independente), sendo que as variáveis descritivas consideradas foram: peso de



Figura 1. Centrífuga de bancada microhemato.

nascimento, idade gestacional, idade pós-natal no momento da coleta, tipo de parto, e raça. Para análise estatística foram usados o teste T-pareado, gráfico de Bland-Altman e a análise de regressão linear.

O projeto de pesquisa referente a este trabalho foi previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa indicado pela comissão nacional de ética em pesquisa do Ministério da Saúde. Com a inclusão de cada paciente na pesquisa, era assinado o termo de consentimento livre e esclarecido pela mãe ou responsável legal do paciente.



Figura 2. Bilirrubinômetro.

RESULTADOS

Na população estudada (71 neonatos), 58% dos neonatos pertenciam ao sexo masculino e 42% ao sexo feminino. Quanto à idade gestacional, 63% eram a termo, 36% pré-termos e 1 paciente pós-termo. Com relação à via de parto, 55% nasceram de parto vaginal e 45% de parto cesáreo. Quanto a raça, 67% brancos, 22% pardos e 11% negros. A média do peso de nascimento foi de 2.840 gramas e a média da idade pós-natal quando foi realizada a coleta sanguínea foi de 88 horas de vida.

Foram realizadas 82 dosagens pareadas da bilirrubinemia total, onde a média da bilirrubinemia sérica laboratorial foi de 11,9mg/dl (enquanto que a média da dosagem capilar foi de 9,2mg/dl (2,59). O coeficiente de correlação linear foi de 0,88. A média da diferença entre os dois métodos de dosagem foi de -2,73 mg/dl (± 1,44), com intervalo de confiança em 95% variando de -3,04 a -2,41 (Figura 3). Todos os valores da dosagem capilar foram menores que o valor da dosagem sérica laboratorial. Como esta diferença foi estatisticamente significante, foi feita analise por regressão linear onde y = 1,2964 e x = 0,012, sendo "y" a dosagem laboratorial e "x" a dosagem capilar (Figura 4).

DISCUSSÃO

A determinação da bilirrubinemia é a mais irreal das dosagens bioquímicas[13]. Os primeiros métodos de dosagem de bilirrubina exigiam grandes volumes sanguíneos, necessitando de coletas de até 10ml para se obter 4ml de plasma[14]. Grandes progressos foram feitos na modernização dos métodos de dosagem e no aumento da sua confiabilidade.

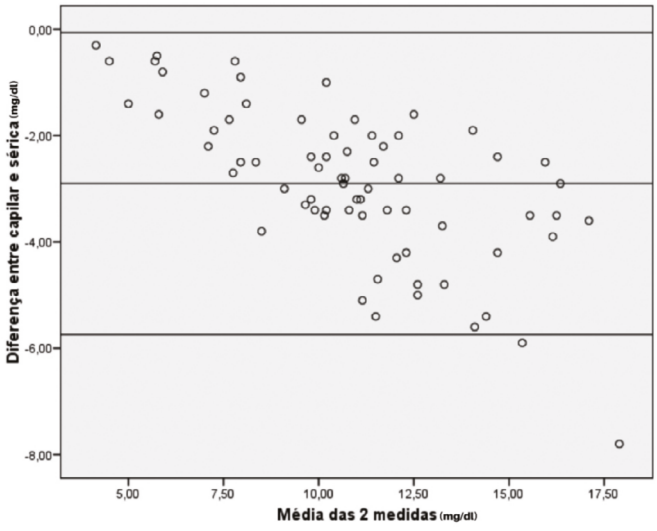


Figura 3. Gráfico de Bland-Altman.

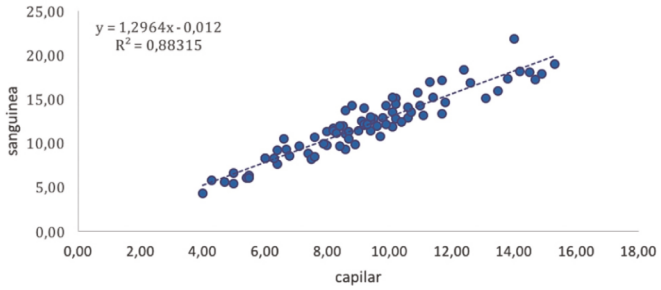


Figura 4. Análise de regressão linear.

O uso de padrões calibradores inadequados é citado como a principal causa da variabilidade dos resultados da bilirrubinemia[15]. Um controle analítico adequado pode ser conseguido se forem seguidos rigorosamente os procedimentos necessários para o preparo dos padrões calibradores[16]. Uma vez preparado, o padrão calibrador deve ser convenientemente dividido em alíquotas e armazenado a -70 °C[17], a fim de que possa ser usado rotineiramente, por longo tempo, no controle de qualidade das dosagens da bilirrubinemia. A ausência do uso do padrão calibrador também foi um dos problemas relatados por um estudo realizado em 312 laboratórios americanos[18].

Durante o levantamento bibliográfico de pesquisas com o mesmo objetivo deste estudo, a grande dificuldade encontrada foi a ausência de citação do modelo de bilirrubinômetros usados, pois existem vários modelos no mercado que poderiam explicar a variabilidade dos resultados. Em alguns modelos a leitura é feita diretamente no capilar e em outros é necessário transferir o plasma do capilar para cuvetas que são então introduzidas no aparelho para leitura. O Toitu BL-200 faz a leitura diretamente no capilar. Já no bilirrubinômetro Unistat/Leica, a leitura é feita após o plasma ser transferido para uma cuveta e, usando este aparelho foi encontrado alto índice de correlação da dosagem capilar comparando-a com a HPLC[19]. Este mesmo aparelho foi usado para comparação da dosagem capilar com a transcutânea, realizada pelo "*Bilicheck*", sendo que os valores encontrados pela dosagem capilar foram ligeiramente mais baixos que a transcutânea[10].

Em 2009, Chen et al.[20] citaram o modelo de bilirrubinômetro usado (Wako Bilirubin Tester SE) comparando sua dosagem capilar com a laboratorial pelo Hitachi 7170 em 46 neonatos tailandeses. Encontraram diferença significante com bilirrubinemias maiores que 15mg/dl, r^2 = 0,95 com média das diferenças entre as dosagens de 1,65mg/dl e equação y = 0,798x + 1,1595 sendo também a dosagem capilar menor que a dosagem laboratorial. Em outro estudo a dosagem capilar também subestimou a dosagem venosa em menos de 1mg/dl quando a bilirrubinemia era maior que 10mg/dl[21].

Recentemente, um estudo em 428 neonatos iranianos encontrou uma média de 0,91mg/dl menor na dosagem capilar do que a laboratorial venosa, com r = 0,96, mas não citou o modelo do aparelho usado[22].

Quando comparada com a dosagem em sangue arterial, a dosagem capilar de bilirrubinas em 35 amostras também apresentou boa correlação sendo r = 0,993[23] e r = 0,90 em neonatos sadios de baixo de peso[24].

No nosso estudo, apesar de termos encontrado diferença estatisticamente significante entre os dois métodos de dosagem, por ser a dosagem capilar tecnicamente mais fácil e rápida, sugerimos que poderá ser usada na prática clínica diária se for multiplicado 1,3mg/dl do valor obtido, a fim de que possamos usá-la no manejo clínico dos recém-nascidos ictéricos semelhante à população envolvida neste estudo, ou seja, neonatos termo e pré-termos tardios. A dosagem sanguínea rotineiramente realizada neste serviço, têm como principais inconvenientes a dificuldade técnica da punção venosa, frequentemente realizadas em neonatos prematuros e/ou de baixo peso que possuem menor calibre dos vasos e maior fragilidade dos mesmos, além da demora na obtenção dos resultados destas dosagens, provavelmente devido ao grande volume de trabalho do laboratório do nosso serviço.

CONCLUSÃO

Neste estudo foi alcançado o objetivo proposto que seria a comparação da bilirrubina sérica com a bilirrubina capilar. Apesar de existir diferença significante entre os dois métodos de dosagem, por ser a dosagem capilar tecnicamente mais fácil e rápida, sugerimos que pode ser usada na prática clínica diária, sendo multiplicado o valor de 1,3mg/dl do valor obtido, a fim de que possamos usá-la no manejo clínico dos recém-nascidos ictéricos internados em alojamento conjunto, neonatos a termo e pré-termos tardios como a população envolvida neste estudo, reservando a dosagem sanguínea para as situações onde a demora do resultado do exame não seja um inconveniente para o paciente.

REFERÊNCIAS

1. Moyer VA, Ahn C, Sneed S. Accuracy of clinical judgment in neonatal jaundice. Arch Pediatr Adolesc Med. 2000 Abr;154(4):391-4.
2. Abdab-Barmada M. The neuropathology of kernicterus. Definitions and debate. In: Maisels MJ, Watchko JF, eds. Neonatal jaundice. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 2000. p. 75-88.
3. Newman TB, Xiong B, Gonzales VM, Escobar GJ. Prediction and prevention of extreme neonatal hyperbilirubinemia in a mature health maintenance organization. Arch Pediatr Adolesc Med. 2000 Nov;154(11):1140-7.
4. American Academy of Pediatrics (AAP). Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the healthy term newborn. Pediatrics. 2004;114(1):297-316.
5. Muraca M, Blanckaert N. Liquid-chromatographic assay and identification of mono-and diester conjugates of bilirubin in normal sérum. Clin Chem. 1983 Out;29(10):1767-71.
6. Sykes E, Epstein E. Laboratory measurement of bilirubin. Clin Perinatol. 1990 Jun;17(2):397-416.
7. Simmons NA. An automated method for sérum bilirubin determination. J Clin Path. 1968 Mar;21(2):196-201.

8. Doumas BT, Perry BW, Sasse EA, Straumfjord Junior JV. Standardization in bilirubin assays: evaluation of selected methods and stability of bilirubin solutions. Clin Chem. 1973 Set;19(9):984-93.
9. Amenta JS, Silverman JA. Commercially prepared bilirubin standards may not be valid for use with direct spectrophotometric assay. Clin Chem. 1982;28(8):1812.
10. Leite MGC, Granato VA, Facchini FP, Marba ST. Comparison of transcutaneous and plasma bilirubin measurement. J Pediatr (Rio J). 2007;83(3): 283-6.
11. Jacques SL. Path integral description of light transport in tissue. Ann N Y Acad Sci. 1998 Fev;838:1-13.
12. Doria Filho U. Introdução à bioestatística para simples mortais. 11ª ed. Amsterdam: Elsevier; 1999.
13. Mather A. Reliability of bilirubin determinations in icterus of the newborn infant. Pediatrics. 1960 Set;26:350-4.
14. Watson D, Rogers JA. A study of six representative methods of plasma bilirubin analysis. J Clin Path. 1961;14(3):271-8.
15. Doumas BT, Perry BW, Sasse EA, Straumfjord Junior JV. Standardization in bilirubin assays: evaluation of selected methods and stability of bilirubin solutions. Clin Chem. 1973 Set;19(9):984-93.
16. Joint Committe Report. Recomendation on a uniform bilirubin standard. Clin Chem. 1962;8:405-7.
17. Leite MGC, Facchini FP, Faria CC, Danelon MRG. Avaliação laboratorial da estabilidade do padrão calibrador de bilirrubina. J Patol Clin. 2001;39(1):21-5.
18. Dale JC, Hamrick HJ. Neonatal bilirubin testing practices: reports from 312 laboratories enrolled in the Colege of American Pathologists Excel Proficiency Testing Program. Arch Pathol Lab Med. 2000 Out;124(10):1425-8.
19. Gourley GR, Bhutani VK, Johnson LH, Kreamer B, Kosorok MR, Dalin C. Measurement of serum bilirubin in newborn infants: common clinical laboratory methods versus high performance liquid chromatography (HPLC). Pediatr Res. 1999;45:283A.
20. Chen SD, Wang CM, Lee WL, Wang WC, Chen CJ. Two different tests for total bilirubin in neonates and infants. Pediatr Neonatol. 2009 Dez;50(6):291-3.
21. Leslie GI, Philips JB, Cassady G. Capillary and venous bilirubin values. Are they really different? Am J Dis Child. 1987 Nov;141(11):1199-200.
22. Mussavi M, Niknafs P, Bijari B. Determining the correlation and accuracy of three methods of measuring neonatal bilirubin concentration. Iran J Pediatr. 2013 Jun;23(3):333-9.
23. Langbaum ME, Pomerance JJ, Farber SJ, Rosenthal P. Comparison of arterial and capillary bilirubin values in neonates with arterial lines. J Pediatr. 1993 Nov;123(5):794-6.
24. Amato M, Huppi P, Markus D. Assessment of neonatal jaundice in low birth weight infants comparing transcutaneous, capillary and arterial bilirubin levels. Eur J Pediatr. 1990 Nov;150(1):59-61.