AUTO-BILIRRUBIN-T LIQUICOLOR

MÉTODO:
DPD.

FINALIDADE:
Teste fotométrico para determinação quantitativa da Bilirrubina Total. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:
A bilirrrubina indireta é liberada pelo detergente. A bilirrubina total é ligada ao complexo diazônio, 3,5-dichlorophenyl-diazonium-tetrafluoroborate (DPD) para produzir a azobilirrubina correspondente. A absorbância da coloração originada é lida em 546 nm e é diretamente proporcional a concentração de bilirrubina total da amostra.

BILIRRUBINA + DPD + CAFEÍNA $\longrightarrow$ AZOBILIRRUBINA TOTAL

SIGNIFICADO CLÍNICO:
Dependendo do distúrbio (doenças adquiridas, hereditárias, medicamentosas) a bilirrubina direta (conjugada), indireta (não-conjugada) ou ambas (total) são as principais causas da hiperbilirrubinemia.
As causas mais comuns de aumento da bilirrubina direta são as doenças hepato-celulares e das vias biliares como hepatites, colangites, cirroses, alcoolismo, obstrução biliar intra ou extra-hepática, mononucleose infecciosa, neoplasias, colecistites. A forma mais comum de aumento da bilirrubina indireta é a encontrada em recém-nascidos (icterícia fisiológica) resultado da produção aumentada de bilirrubina como resultado da hemólise das hemácias e da maturação incompleta dos mecanismos do metabolismo e excreção da bilirrubina. Outras causas do aumento da bilirrubina não-conjugada são anemia hemolítica, eritropoiese ineficaz, síndrome de Crigler-Najjar, síndrome de Gilbert.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 a 8ºC.

RGT1 – Detergente (tampa verde)**:** Cafeína 5,2 mmol/L, detergente e conservante.

RGT2 – Reagente de cor (tampa preta)**:** 3,5-diclorofenil-diazonio-tetrafluoroborato 0,9 mmol/L; cafeína 5,2 mmol/L, detergente e conservante.

PREPARO DOS REAGENTES:
Os reagentes estão prontos para uso.

ESTABILIDADE:
Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade, mesmo depois de abertos, quando armazenados fechados entre 2 e 8ºC, **na geladeira**. Os reagentes são estáveis por no mínimo 30 dias quando armazenados na bandeja de reagentes de **instrumentos automáticos**, entre 2-8ºC. Proteger o RGT2 da luz.

TRANSPORTE:
O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

TERMOS E CONDIÇOES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
- Todo o material contendo amostras de pacientes ou controles deve ser inativado por procedimentos validados (autoclavação ou tratamento químico).
- Para o descarte seguro dos reagentes sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro, plasma (heparina).
Evitar amostras hemolisadas e lipêmicas. As amostras devem ser protegidas da luz.
Estabilidade: A bilirrubina é estável por 3 dias quando armazenada protegida da luz entre 2 e 8ºC ou por 03 meses a –20ºC.

INTERFERÊNCIAS:
Triglicérides até 450 mg/dL e hemoglobina até 100 mg/dL não interferem nos resultados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho-maria 37ºC

MÉTODO DE ANÁLISE:
A- Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 546 nm (520-560 nm)
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 25 ou 37ºC
Medida: Contra reagente branco.

B. Esquema de Pipetagem:

Pipetar dentro das cubetas:		
	Reagente Branco	Amostra ou Calibrador
Amostra ou Calibrador	---	20 µL
Água deionizada	20 µL	---
RGT1	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar cuidadosamente, incubar por 5 minutos a 37ºC ou por 10 minutos a 25ºC		
Ler a absorbância A_1.		
RGT2	250 µL	250 µL
Homogeneizar cuidadosamente, incubar por **exatamente 5 minutos** a 37ºC ou por **exatamente 10 minutos** a 25ºC. Ler a absorbância A_2. $\Delta A = A_2 - A_1$.		

CÁLCULO:
$\Delta A_{546nm} = \Delta A_{S/CAL} - \Delta A_{RB}$

$$C = C_{CAL} \times \frac{\Delta_{amostra}}{\Delta A_{CAL}} \text{ mg/dL} \quad \text{ou} \quad C = C_{CAL} \times \frac{\Delta_{amostra}}{\Delta A_{CAL}} \text{ mmol/L}$$

CALIBRAÇÃO:
Recalibrar se ocorrer mudança de lote ou se o controle interno da qualidade indicar.
Para a verificação/calibração usar o calibrador AUTOCAL.

VALORES DE REFERÊNCIA:

Bilirrubina Total		mg/dL	µmo/L
Neonatal	24 h	Até 8,7	150
	2º dia	1,3 – 11,3	22 – 193
	3º dia	0,7 – 12,7	12 – 217
	4º dia – 6º dia	0,1 – 12,6	2 - 216
Criança	>1 mês	0,2 – 1,0	3 - 17
Adulto		0,1 – 1,2	2 - 21

Esta faixa é fornecida apenas como orientação. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

RASTREABILIDADE:
O método da Auto-Bilirrubin-T Liquicolor é rastreável ao material de referência SRM 909 B.

AUTOMAÇÃO:
Protocolos de aplicação para equipamentos semi-automáticos ou automáticos serão fornecidos quando solicitados pelo cliente.
Cada laboratório deve ser responsável pela validação da aplicação.

LINEARIDADE:
A reação é linear até 30 mg/dL. Para amostras de bilirrubina com concentrações acima de 30 mg/dL, diluir a amostra 1 + 4 com salina fisiológica (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 5.

SENSIBILIDADE:
0,06 mg/dL

CONTROLE DE QUALIDADE:
Todo soro controle contendo valores determinados para bilirrubina por este método pode ser usado.

REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

	REPETIBILIDADE			**REPRODUTIBILIDADE**		
N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
30	0,67	0,018	2,72	0,67	0,021	3,06
30	1,09	0,045	4,12	1,09	0,052	4,76
30	12,75	0,279	2,19	12,75	0,429	3,36

ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA:
O kit Auto-Bilirrubin-T liquicolor foi comparado contra um método comercialmente disponível. Soro controle e amostras de pacientes foram empregados na comparação (N=58).

Regressão linear obtida:
r = 1,000
Y= 0,972x - 0,002

Os métodos mostraram uma boa concordância e nenhum desvio significativo foi observado em nenhuma das amostras.

NOTAS:
- A bilirrubina é sensível a luz, as amostras devem ser mantidas no escuro.
- Os níveis de bilirrubina podem diminuir se a amostra for exposta a luz. Hemólise também diminui os valores de bilirrubina devido ao efeito inibidor da diazo reação.
- O teste pode ser feito com 50 µL de amostra ou CAL; neste caso a linearidade é reduzida para 25 mg/dL.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
10742-M	RGT1 RGT2	1 x 100 mL 1 x 25 mL	100

BIBLIOGRAFIA:
1. Tietz N.W., Clinical guide to laboratory tests, Saunders Co.
2. Thomas L., Clinical Laboratory Diagnostics, TH-Books (1998).

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: **08005919186** E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda
Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
Telefone: 31-3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
Reg. M.S. 10303460130 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

Σ	O conteúdo é suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização
	Limite de temperatura (conservar a)
REF	Número do Catálogo
	Consultar Instrução de Uso
LOT	Número do lote
IVD	Produto Diagnóstico In Vitro
	Data de Fabricação