

AUTO-BILIRRUBIN-D LIQUICOLOR

MÉTODO:

DPD.

FINALIDADE:

Teste fotométrico para determinação quantitativa da Bilirrubina Direta. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O sal de diazônio estabilizado 3,5-dichlorophenyl-diazonium-tetrafluoroborate (DPD) se liga diretamente à bilirrubina direta (conjugada) em um meio ácido para produzir a quantidade de azobilirrubina correspondente. A absorbância da coloração obtida é lida em 546 nm e é diretamente proporcional a concentração de bilirrubina direta da amostra.

BILIRRUBINA + DPD → AZOBILIRRUBINA DIRETA

SIGNIFICADO CLÍNICO:

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.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

RGT1 – Ácido Clorídrico: Ácido clorídrico 170 mmol/L.

RGT2 – Reagente de Cor: Ácido Sulfúrico <5%; 3,5-diclorofenil-diazonio-tetrafluoroborato 0,24 mmol/L.

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 8°C, **na geladeira**. Os reagentes são estáveis por no mínimo 30 dias quando armazenados na bandeja de reagentes de **instrumentos automáticos**, entre 2-12°C. Proteger o **RGT2** da luz.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

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 37°C.

PRECAUÇÕES:

- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
- Manter no frasco original;
- Usar equipamentos de proteção necessários;
- Em caso de contato desta solução com a pele ou mucosa, lavar com bastante água e procurar um médico;
- Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos. Remover lentes de contatos, se presentes e for fácil a retirada. Continuar a lavar.
- 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 8°C ou por 3 meses a -20°C.

INTERFERÊNCIAS:

Triglicérides até 2500 mg/dL, Ácido Ascórbico até 20 mg/dL não interferem nos resultados. Amostras hemolisadas produzem resultados falsamente baixos, portanto não devem ser testadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho-maria 37°C

MÉTODO DE ANÁLISE:

A- Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 546 nm (520-560 nm)

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 25 ou 37°C

Medida: Contra reagente branco.

B. Esquema de Pipetagem:

Pipetar dentro das cubetas:			
	Reagente Branco	Amostra ou Calibrador	
Amostra ou Calibrador	---	100 µL	
Água deionizada	100 µL	---	
RGT1	1000 µL	1000 µL	
Homogeneizar cuidadosamente, incubar 2 a 5 minutos em 25°C ou 37°C			
Ler a absorbância A ₁ .			
RGT2	250 µL	250 µL	
Homogeneizar cuidadosamente, incubar por exatamente 5 minutos a 37°C ou por exatamente 10 minutos a 25°C. Ler a absorbância A ₂ . ΔA = A ₂ -A ₁ .			

CÁLCULO:

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

$$C_{\text{Bilirrubina}} (\text{mg/dL}) = \Delta A_{\text{amostra}} \times F$$

$$F_{546 \text{ nm}} = 33,7$$

$$F_{546 \text{ nm}} = C_{\text{CAL}} / \Delta A_{\text{CAL}}$$

$$(\text{mg/dL}) \times 17,1 = (\mu\text{mol/L})$$

INTERVALO DAS CALIBRAÇÕES:

Verificar o fator (F) regularmente, pelo menos uma vez ao mês.

Recalibrar se ocorrer mudança de lote ou se o controle interno da qualidade indicar.

Para a verificação/calibração usar o calibrador AUTOCAL da Human.

VALORES DE REFERÊNCIA:

Adultos e Crianças: Até 0,2 mg/dL ou 3,42 µmol/L

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

RASTREABILIDADE:

O método da Auto-Bilirrubin-D 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 9 mg/dL. Para amostras de bilirrubina com concentrações acima de 9 mg/dL, diluir a amostra 1 + 4 com salina fisiológica (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 5.

SENSIBILIDADE:

0,03 mg/dL

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para bilirrubina, por este método, pode ser empregado.

REPETIBILIDADE:

N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
30	0,83	0,036	4,30
30	1,58	0,05	3,14
30	8,12	0,161	1,98

REPRODUTIBILIDADE:

N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
30	0,83	0,041	5,01
30	1,58	0,056	3,51
30	8,12	0,217	2,67

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit Auto-Bilirrubin-D liquicolor foi comparado contra um método comercialmente disponível. Soro controle e amostras de pacientes foram empregadas na comparação (N=55).

Regressão linear obtida:

$$r = 0,994$$

$$Y = 1,074x + 0,011$$

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.
- O método diazo de bilirrubina direta detecta ao lado de bilirrubina conjugada outras frações de bilirrubina: B_s e B_u.
- As determinações de bilirrubina direta devem ser realizadas para concentrações de bilirrubina total >2 mg/dL. Devido a limitações metodológicas, poderão ser vistas concentrações incorretas de bilirrubina direta até 0,2 mg/dL.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
10741-M	RGT1	1 x 100 mL	100
	RGT2	1 x 25 mL	

REV. 12/13

InVitro

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 por 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. 10303460129 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação