

# Bilirrubina Direta InViVET

**MÉTODO:**  
DPD.

**FINALIDADE:**

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

**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:**

O aumento da concentração sérica de bilirrubina (hiperbilirrubinemia) pode ser decorrente de três principais mecanismos patológicos. Eles incluem aumento da produção de bilirrubina (devido à destruição acelerada de eritrócitos), menor absorção ou conjugação de bilirrubina pelos hepatócitos e menor excreção de bilirrubina (colestase). O aumento da produção de bilirrubina deve-se mais frequentemente à doença hemolítica (hemólise extravascular ou intravascular), mas também pode ser decorrente de hemorragia interna intensa e subsequente destruição de eritrócitos no local da hemorragia.

**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 <sub>1</sub> .		
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 <sub>2</sub> . ΔA = A <sub>2</sub> -A <sub>1</sub> .		

**CÁLCULO:**

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

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

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

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

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

**VALORES DE REFERENCIA:**

Espécie	mg/dL
Canina	0,06 - 0,12
Bovina	0,04 - 0,44
Equino	0 - 0,4
Felino	0,15 - 0,50

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

**RASTREABILIDADE:**

O método da Bilirrubina Direta InViVET é rastreável ao material de referência SRM 909 B.

**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. Recomendamos o uso do Controle 1 InViVET e Controle 2 InViVET.

**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 Bilirrubina Direta VET 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<sub>s</sub> e B<sub>u</sub>.

- 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
402	RGT1	1 x 50 mL	50
	RGT2	1 x 12,5 mL	

#### BIBLIOGRAFIA:

1. Tietz N.W., Clinical guide to laboratory tests, Saunders Co.
2. Thomas L., Clinical Laboratory Diagnostics, TH-BOOKS (1998).
3. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária / Mary Anna Thrall ... [et. al.]; tradução Alexandre Barros Sobrinho ...[et. al.]. - [2. ed.] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
4. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária, STOCKHAM, S.; SCOTT, M., Guanabara Koogan, 2ª Edição, 2020.
9. Manual de Patologia Clínica Veterinária, LOPES, S.; BIONDO, A., SANTOS, A., UFSM, 3ª Edição, 2007.
10. Large Animal Interne Medicine, SMITH, B., Mosby Elsevier, 4ª Edition.

#### DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.  
 Telefone: 31-3654-6366 e-mail: invitroms@invitro.com.br








#### 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

#### SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

	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