

# Bilirrubina Total InViVET

## MÉTODO:

DPD.

## FINALIDADE:

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

## FUNDAMENTO:

A bilirrubina 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 → AZOBILIRRUBINA TOTAL

## 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.

**RGT1** – Detergente: Cafeína 5,2 mmol/L, detergente e conservante.  
**RGT2** – Reagente de cor: 3,5-diclorofenil-diazônio-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 8°C, **na geladeira**. Os reagentes são estáveis por no mínimo 30 dias quando armazenados na bandeja de reagentes de instrumentos automáticos, entre 2-8°C. 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 37°C.

## TERMOS E CONDIÇÕES 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 8°C ou por 03 meses a -20°C.

## 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 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  | ---             | 20 µL                 |
| Água deionizada  | 20 µL           | ---                   |
| <b>RGT1</b>  | 1000 µL         | 1000 µL               |
| Homogeneizar cuidadosamente, incubar por 5 minutos a 37°C ou por 10 minutos a 25°C   |                 |                       |
| Ler a absorbância A <sub>1</sub> .   |                 |                       |
| <b>RGT2</b>  | 250 µL          | 250 µL                |
| Homogeneizar cuidadosamente, incubar por <b>exatamente 5 minutos</b> a 37°C ou por <b>exatamente 10 minutos</b> a 25°C. Ler a absorbância A <sub>2</sub> . ΔA = A <sub>2</sub> -A <sub>1</sub> . |                 |                       |

## CÁLCULO:

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

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

## VALORES DE REFERENCIA:

| Espécie | mg/dL      |
|---------|------------|
| Canina  | 0,1 - 0,5  |
| Felino  | 0,15 - 0,5 |
| Bovino  | 0,01 - 0,5 |
| Equino  | 1 - 2,0    |
| Ovino   | 0,1 - 0,2  |
| Caprino | 0 - 0,1    |

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

## RASTREABILIDADE:

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

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

## REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

| N  | REPETIBILIDADE |            |      | REPRODUTIBILIDADE |            |      |
|----|----------------|------------|------|-------------------|------------|------|
|    | 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 Bilirrubina Total VET 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 |
|--------|--------------|--------------------------|-----------|
| 403    | RGT1<br>RGT2 | 1 x 50 mL<br>1 x 12,5 mL | 50        |

## 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. RJ: Guanabara Koogan, 2015.
4. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária, STOCKHAM, S.; SCOTT, M., Guanabara Koogan, 2ª Edição, 2020.
5. Manual de Pat. Cli. Vet. LOPES, S.; BIONDO, A., SANTOS, A., UFSM, 3ª Edição, 2007.
6. 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