BILI.TOTAL

MÉTODO:
DCA (Dicloroanilina Diazotada).

FINALIDADE:
Kit de reagentes para diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa de bilirrubina total em soro humano em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A bilirrubina é um pigmento amarelo produto da degradação da hemoglobina, que consiste em uma proteína responsável pelo transporte de oxigênio nos glóbulos vermelhos. A bilirrubina é classificada em duas frações, direta ou conjugada e indireta ou não-conjugada.
A soma dessas duas frações é denominada bilirrubina total. O exame laboratorial para quantificação desse analito é solicitado, principalmente, quando se deseja investigar causas de hiperbilirrubinemia, tais como icterícia hepática, hepatite, cirrose hepática, colelitíase e obstrução biliar.

FUNDAMENTO:
Quando a amostra é solubilizada em meio ácido as duas frações de bilirrubina (direta e indireta) reagem com a dicloroanilina diazotada formando azobilirrubina, um composto de cor que pode ser lido entre 520 e 560 nm, e a intensidade da cor é diretamente proporcional a concentração de bilirrubina total presente na amostra analisada.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:
R1:

N, N dimetilformamida	≤3.500 mmol/L
(DMF)	≤63 mmol/L
Ácido clorídrico	≤74 mmol/L
Ácido Sulfâmico	≤0,107 mmol/L
EDTA	
Surfactantes	
Estabilizantes	

R2:

3,5 diclofenildiazônio	≤1,52 mmol/L
Ácido clorídrico	≤96,8 mmol/L
Dimetil Sulfóxido	≤94 mmol/L
Estabilizantes	

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.
Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados em temperatura entre 2 e 8 °C.
Após aberto, os reagentes são estáveis por 150 dias se mantidos fechados e armazenados entre 2 e 8°C.
Para informações de estabilidade *on board*, consultar a assessoria científica.

Não congelar!

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:
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro humano.
As amostras devem ser protegidas da luz!

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da bilirrubina em soro humano é de 3 dias quando armazenado entre 2 e 8 °C e 6 meses quando armazenado a -20 °C. As amostras devem ser protegidas da luz direta.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas.

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	30 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Triglicérides	1000 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5°C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 546nm (520 a 560nm)
Temperatura: 37°C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C- Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	50 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	50 µL	---
Amostra	---	---	50 µL
2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C			
3- Ler a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (Abs 1) a 546nm.			
4- Adicionar:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

5- Homogeneizar bem, incubar por 5 minutos a 37°C
6- Ler absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (Abs 2), respeitando o comprimento de onda utilizado na absorbância 1

D-Cálculo com padrão:
$\Delta Abs = Abs2 - Abs1$

$$\text{Bilirrubina Total (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{\text{Amostra}}}{\Delta Abs_{\text{Padrão}}} \times \text{Concentração do calibrador/padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\text{Amostra}}$: 0,184
$\Delta Abs_{\text{Padrão}}$: 0,962
Concentração do calibrador/padrão: 4,25 mg/dL

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Bilirrubina Total (mg/dL)} = \Delta Abs_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{4{,}25 \text{ mg/dl}}{0{,}962}$$

Fator de calibração = 4,41
Bilirrubina Total (mg/dL) = 0,184 × 4,41
Bilirrubina Total (mg/dL) = **0,81 mg/dL**

VALORES DE REFERÊNCIA:

Bilirrubina Total		
Cordão umbilical	<2,0 mg/dL	(<34,2µmol/L)
0 a 1 dia	< 8,0 mg/dL	(<136,8µmol/L)
1 a 2 dias	<12,0 mg/dL	(<205,2µmol/L)
3 a 5 dias	<16,0 mg/dL	(<273,6µmol/L)
Crianças, adolescentes e adultos	<1,2 mg/dL	(<20,52µmol/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 17,1µmol/L.

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 30,0 mg/dL (513 µmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 0,07 mg/dL (1,20 µmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	1,65	0,02	1,5
Amostra 2	2,36	0,01	0,5
Amostra 3	19,35	0,19	1,0

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 45 determinações durante 9 turnos consecutivos,

BILI.TOTAL

utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	1,85	0,04	2
Amostra 2	2,50	0,04	1

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o reagente Bilirrubina Total (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
y = 0,8997x + 0,0648 coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,999

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEUDO R1	CONTEUDO R2
BILI. TOTAL (Universal)	HMG0XXXXXXXXEN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
	HMG0XXXXXXXXEN	250 mL	2 x 100 mL	2 x 25 mL
BILI. TOTAL (BM SERIES I)	HMG0XXXXXXXXEN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
BILI. TOTAL (BM SERIES III)	HMG0XXXXXXXXEN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 816926XXXX

BIBLIOGRAFIA:

1. BONFIM.V.V.B.S., et al. Repercussões da Icterícia Neonatal no Prematuro. Research, Society and Development, 2021.
2. MSD Manuals Icterícia.In: Abordagem ao paciente com doença hepatica. [S.I.]: MSD Manuals,[s.d].Disponívelem:(https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/dist%C3%BArbios-hep%C3%A1ticos-e-biliares/abordagem-ao-paciente-com-doen%C3%A7a-hep%C3%A1tica/icter%C3%ADcia). Acesso em: [08/02/2025].
3. Quality Requirements. Desirable Biological Variation Database Specifications. Disponível em: <https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/biodatabase1.ht mL>. Acesso em: 14 de Dezembro de 2024.
4. Chesher D. Evaluating assay precision. Clin Biochem Rev. 2008 Aug;29 Suppl 1(Suppl 1):S23-6. PMID: 18852851; PMCID: PMC2556577.
5. OLIVEIRA, Carla Albuquerque; MENDES, Maria Elizabete. Gestão da Fase Analítica do Laboratório. Como assegurar a qualidade na prática. Controllab. Disponível em: <https://controllab.com/ensino/livros/gestao-da-fase-analitica-do-laboratorio-como-assegurar-a-qualidade-na-pratica-vol-i/>. Acesso em: 14 de Dezembro de 2024.
6. Jack Zakowski, Determinação da estabilidade, Química Clínica , Volume 37, Edição 3, 1 de março de 1991, Páginas 313-314, https://doi.org/10.1093/clinchem/37.3.313
7. Manual para regularização de produtos para diagnóstico in vitro na anvisa
8. Disponível em: <https://www.aladdiv.org.br/wp-content/uploads/manual-de-regularizacao-de-produtos-ivd> Acesso em: 14 de Dezembro de 2024.
9. BANFI, G., et al. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations and Stability of Blood, Plasma and Serum Samples. WHO/DIL/LAB/99.1, rev.2, 2002.
10. BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. 7ª ed. Koogan, 2016.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE - SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste *kit*, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA - VYTTRA
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura



Código do Produto


Consultar Instruções de Uso



Número do Lote



Produto para Diagnóstico *In Vitro*