# BILIRRUBINA DIRETA

**MÉTODO:**
DCA (Dicloroanilina Diazotada).

**FINALIDADE:**
Kit de reagentes diagnóstico para determinação quantitativa de bilirrubina direta no soro ou plasma heparinizado em sistemas fotométricos.
**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

**SIGNIFICADO CLÍNICO:**
O aumento da bilirrubina pode ser visualizado em vários tipos de hepatite, cirrose hepática e icterícia obstrutiva. É um parâmetro mais sensível que as transaminases na avaliação do prognóstico de hepatite crônica e no diagnóstico de cirrose precoce. A bilirrubina direta é diminuída no soro durante anemia grave.

**FUNDAMENTO:**
Em condições ácidas, a bilirrubina direta reage com a dicloroanilina diazotada, formando um componente de cor, cuja quantidade é proporcional à concentração da bilirrubina presente na amostra.

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

**COMPOSIÇÃO:**

| | | |
|---|---|---|
| **R1:** | | |
| EDTA dissódico | ≥0,70 | mmol/L |
| Cloreto de sódio | ≥6,6 | g/L |
| Ácido sulfâmico | ≥70 | mmol/L |
| **R2:** | | |
| EDTA dissódico | ≥0,02 | mmol/L |
| Dicloroanilina diazotada | ≥0,09 | mmol/L |
| Ácido clorídrico | ≥130 | mmol/L |

**MODO DE USO:**
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

**ESTABILIDADE:**
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados em temperatura entre 2 e 8 °C.
**Não congelar!**

**Estabilidade *on board***
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 63 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:

- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

**Frequência de Calibração**
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:

- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 22 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

**Nota:** A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

**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:**

- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- 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 Segurança (FDS).
- 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 ou plasma (heparina) livres de hemólise.

**As amostras devem ser protegidas da luz!**

**ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:**
A estabilidade da bilirrubina em soro ou plasma (heparina) é de 3 dias entre 2 e 8 °C ou 3 meses 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 | 50 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): 546 nm (520 a 560 nm)
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** | 100 µL | --- | --- |
| **Calibrador/Padrão** | --- | 100 µL | --- |
| **Amostra** | --- | --- | 100 µL |
| 2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C<br>3- Ler a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (Abs 1) a 546 nm (520 a 560 nm)<br>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 mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância 1

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

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

**Exemplo:**
$\Delta Abs_{\text{Amostra}}$: 0,184
$\Delta Abs_{\text{Padrão}}$: 0,962
Concentração do calibrador/padrão: 1,5 mg/dL

$$\text{Bilirrubina direta (mg/dL)} = \frac{0,184}{0,962} \times 1,5 \text{ mg/dL}$$

Bilirrubina direta (mg/dL) = **0,29 mg/dL**

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

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

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

**Exemplo:**

$$\text{Fator de calibração} = \frac{1,5 \text{ mg/dL}}{0,962}$$

Fator de calibração = 1,56
Bilirrubina direta (mg/dL) = 0,184× 1,56
Bilirrubina direta (mg/dL) = **0,29 mg/dL**

**VALORES DE REFERÊNCIA:**

| | | |
|---|---|---|
| **Bilirrubina Direta** | | |
| Crianças, adolescentes e adultos | <0,4 mg/dL | (<5,64 µmol/L) |
| **Bilirrubina Total** | | |
| Cordão umbilical | <2,0 mg/dL | (<34,2 µmol/L) |
| 0 a 1 dia | < 8,0 mg/dL | (<136,8 µmol/L) |
| 1 a 2 dias | <12,0 mg/dL | (<205,2 µmol/L) |
| 3 a 5 dias | <16,0 mg/dL | (<273,6 µmol/L) |
| Crianças, adolescentes e adultos | <1,2 mg/dL | (<20,52 µmol/L) |

# BILIRRUBINA DIRETA

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

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

**LINEARIDADE:**
A reação é linear até a concentração de 10,0 mg/dL (180 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 0,03 mg/dL (0,586 µmol/L).

**PRECISÃO:**
**Repetibilidade:**
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

| INTRAENSAIO *n = 20* | Média (mg/dL) | Desvio padrão (mg/dL) | CV% |
|---|---|---|---|
| Amostra 1 | 1,07 | 0,01 | 0,64 |
| Amostra 2 | 2,71 | 0,02 | 0,58 |

**Reprodutibilidade:**
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 4 dias consecutivos, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

| INTERENSAIO *n = 20* | Média (mg/dL) | Desvio padrão (mg/dL) | CV% |
|---|---|---|---|
| Amostra 1 | 1,04 | 0,03 | 2,80 |
| Amostra 2 | 2,65 | 0,05 | 1,94 |

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:**
Foram realizados testes com 22 amostras comparando-se o reagente BILIRRUBINA DIRETA (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

$y = 0{,}9878x - 0{,}1254$ coeficiente de correlação ($r$-Pearson) = 0,9999

**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 | CONTEÚDO R1 | CONTEÚDO R2 |
|---|---|---|---|---|
| **BILIRRUBINA DIRETA** (Universal) | HMG010307204EN | 100 mL | 4 x 20 mL | 2 x 10 mL |
| | HMG010307205EN | 250 mL | 2 x 100 mL | 2 x 25 mL |
| **BILIRRUBINA DIRETA** (BM SERIES I) | HMG010307550EN | 100 mL | 2 x 40 mL | 2 x 10 mL |
| **BILIRRUBINA DIRETA** (BM SERIES III) | HMG010308182EN | 375 mL | 5 x 60 mL | 5 x 15 mL |

**ANVISA: 81692610100**

**BIBLIOGRAFIA:**

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997.
7. Winsten S, Cehelyk B: A rapid diazo technique formeasuring total bilirubin, Clin Chim Acta 25:441, 1969.
8. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
9. Kenny D et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:585, 1999.
10. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.


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

**ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS**
**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