BILIRRUBINA TOTAL

MÉTODO:
DCA (Dicloroanilina Diazotada).

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

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A bilirrubina total inclui a bilirrubina direta e indireta e os valores de ambos variam concomitantemente. A bilirrubina total aumenta em casos de icterícia hepática, hepatite grave e cirrose hepática, como também se apresenta alterada em colelitíase e obstrução biliar.

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

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

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão fosfato	≥40	mmol/L
Cloreto de sódio	≥9,0	g/L
Surfactantes		
R2:		
Dicloroanilina diazotada	≥1	mmol/L
Ácido clorídrico	≥30	mmol/L
Surfactantes		

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 46 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 25 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 de 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 (EDTA, heparina) livres de hemólise.
As amostras devem ser protegidas da luz!

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da bilirrubina em soro ou plasma (EDTA, heparina) é de 3 dias entre 2 e 8 °C e 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	300 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	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 546 nm (520 a 560 nm) 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:
ΔAbs = 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

$$\text{Bilirrubina Total (mg/dL)} = \frac{0,184}{0,962} \times 4,25 \text{ mg/dL}$$

Bilirrubina Total (mg/dL) = **0,81 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 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)

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

BILIRRUBINA TOTAL

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 0,04 mg/dL (0,69 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 = 2*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	1,09	0,01	0,56
Amostra 2	4,04	0,02	0,50

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	1,05	0,02	1,69
Amostra 2	3,90	0,09	2,41

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:

$y = 1{,}0276x - 0{,}2466$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9958

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 TOTAL (Universal)	HMG010307206EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
	HMG010307207EN	250 mL	2 x 100 mL	2 x 25 mL
BILIRRUBINA TOTAL (BM SERIES I)	HMG010307552EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
BILIRRUBINA TOTAL (BM SERIES III)	HMG010308184EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610088

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