BILI. DIRETA

MÉTODO:
DCA (Dicloroanilina Diazotada)
FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa do zinco no soro e plasma heparina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A determinação quantitativa da bilirrubina direta em soro e plasma (EDTA) humano é utilizada como ferramenta auxiliar no diagnóstico e monitoramento de condições que afetam o fígado e as vias biliares. A avaliação dessa fração específica da bilirrubina permite diferenciar distúrbios relacionados à conjugação, excreção ou obstrução biliar.
A literatura de química clínica estabelece a dosagem de bilirrubina direta como parte integrante da avaliação laboratorial da função hepática, sendo interpretada sempre em conjunto com outros parâmetros laboratoriais e dados clínicos.

FUNDAMENTO:
O método DCA baseia-se na reação colorimétrica onde a bilirrubina conjugada hidrossolúvel reage diretamente com o reagente diazotado em meio ácido, resultando na formação de um complexo colorido denominado azobilirrubina que pode ser lido em comprimento de onda de 520 a 560 nm. A intensidade da cor é proporcional a concentração de bilirrubina direta presente na amostra.

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

COMPOSIÇÃO:
R1:

Àcido Sulfâmico	< 120,0	mmol/L
Cloreto de Sódio	< 120,0	mmol/L
EDTA dissódico	<0,10	mmol/L

R2:

3,5 diclorofenildiazôniotetrafluorborato	< 0,60	mmol/L
Ácido Clorídrico	< 35,2	mmol/L
Cloreto de Potássio	< 21,5	mmol/L

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

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

Estabilidade *onboard*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 30 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.

A estabilidade de calibração é de **30 dias**.

Após aberto, os produtos em uso são estáveis **até 90 dias**, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).

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.

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 Ficha de Dados 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.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (EDTA)

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:

As substâncias abaixo não apresentaram interferência até as seguintes concentrações:
- Soro:

Triglicérides	450 mg/dL
Hemoglobina	60 mg/dL

- Plasma EDTA:

Triglicérides	700 mg/dL
Hemoglobina	20 mg/dL

Ácido ascórbico interfere em qualquer concentração, para ambas as amostras.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Espectrofotômetro para leitura em 570 nm-582nm
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Banho-maria a 37 °C
- Controles

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Reagentes prontos para uso.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 546 nm (520 a 560 nm)
Temperatura: 37 ± 0,5 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos

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
Incubar por 1 minuto a 37°C, então adicione:			
Água purificada	100 µL	---	---
Padrão	---	100 µL	---
Amostra	---	---	100 µL
Homogeneizar e incubar por 5 minutos a 37°C. Medir absorbância a 546 nm (520 a 560) (Abs_1). Após, adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C
3- Medir a absorbância (Abs_2) a 546 nm (520 a 560 nm.
A cor final da reação é estável por 15 min.

D-Cálculo com Padrão:

$$\Delta Abs = Abs_2 - Abs_1$$

$$Bilirrubina\ direta\ (mg/dL) = \frac{\Delta Abs_{amostra}}{\Delta Abs_{padrão}} \text{ x concentração do Padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{amostra} = 0{,}184$
$\Delta Abs_{padrão} = 0{,}962$
$$Bilirrubina\ direta\ mg/dL = \frac{0{,}184}{0{,}962} \text{ x } 1{,}5 \text{mg/dL}$$
$$Bilirrubina\ direta\ mg/dL = 0{,}29 \text{mg/dL}$$

E-Cálculo com fator:

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

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

$$Bilirrubina\ direta\ (mg/dL) = \Delta Abs_{amostra} \text{ x fator de Calibração}$$

Exemplo:
$$Fator\ de\ calibração = \frac{1{,}5 \text{ mg/dL}}{0{,}962}$$
$$Fator\ de\ calibração = 1{,}56$$

$$Bilirrubina\ direta\ (\text{mg}/dL) = 0{,}184 \text{ x } 1{,}56$$

$$Bilirrubina\ direta\ (\text{mg}/dL) = 0{,}29\ \text{mg}/dL$$

BILI.DIRETA

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro e plasma		
Crianças, Adolescentes e Adultos	<0,4 mg/dL	(<5,64 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 solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 10 mg/dL para amostras de soro e plasma EDTA. Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com com solução NaCl 9,0g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostras de soro e plasma EDTA: O limite inferior de detecção é 0,03mg/dL.

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

INTRAENSAIO *n = 20*	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra de Soro 1	2,30	0,03	1,48
Amostra de Soro 2	0,07	0,01	9,27
Amostra de Soro 3	2,02	0,03	1,40

INTRAENSAIO *n = 20*	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra de Plasma EDTA 1	0,37	0,01	1,37
Amostra de Plasma EDTA 2	0,15	0,01	3,53
Amostra de Plasma EDTA 3	1,35	0,01	0,91

Reprodutibilidade
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 4 dias consecutivos, utilizando 2 amostras de soro e 2 amostras de plasma heparina com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTER-ENSAIO *n = 10*	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra de soro 1	2,09	0,13	6,23
Amostra de soro 2	0,20	0,03	14,6

INTER-ENSAIO *n = 10*	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra de plasma EDTA 1	1,78	0,04	2,31
Amostra de plasma EDTA 2	0,18	0,01	5,30

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostras de soro: Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o kit Bili.Direta (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em: $y = 0{,}9621\,x - 0{,}033$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,98.

Para amostras de plasma: Foram realizados testes com 30 amostras comparando-se o kit Bili. (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em: $y = 1{,}02x + 0{,}012$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,99.

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 BQI
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	**VOLUME**	**CONTEÚDO**	
			R1	**R2**
BILI. DIRETA (Universal)	VYT010308810EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
	VYT010308811EN	250 mL	2 x 100 mL	2 x 25 mL
BILI. DIRETA (BM SERIES I)	VYT010308812EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
BILI. DIRETA (BM SERIES III)	VYT010308813EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610308

BIBLIOGRAFIA:

1) DOUMAS, B.T. et al. Measurement of Direct Bilirubin by the Use of Bilirubin Oxidase. Clin. Chem., v. 39, p. 2327-2328, 1993.
2) LAUFF, J.J.; KASPER, M.E.; AMBROSE, R.T. Separation of bilirubin species in serum and bile by high-performance reversed-phase liquid chromatography. J. Chromatogr., v. 226, p. 391-402, 1981.
3) WESTGARD, J.O. et al. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin. Chem., v. 27, p. 493-501, 1981.
4) YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5. ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
5) RFAI, N.; HORVATH, A.R.; WITTWER, C.T. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2018.
6) MSD MANUALS. Bilirubin. Disponível em: https://www.msdmanuals.com. Acesso em: 2025.
7) DATA INNOVATIONS. Total, Allowable Error Table (EP Evaluator®). Disponível em: https://www.datainnovations.com/allowable-total-error-table/. Acesso em: 2026.

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
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro