

Bilirrubina Total y Directa Monlabtest®



DMSO. Colorimétrico.

Determinación cuantitativa de bilirrubina total y directa

Para uso profesional de diagnóstico in vitro. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucuronido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina. Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia:

- Bilirrubina Total (T): Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas.
- Bilirrubina Directa (D): Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 (D)	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (HCl)	150 mmol/L
R 2 (T)	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (HCl)	50 mmol/L
	Dimetilsulfóxido (DMSO)	7 mol/L
R 3	Sodio nítrito	29 mmol/L
Opcional	CAL BILIRRUBINA (Nota 3)	MO-165109

PRECAUCIONES

R1/R2: H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. EUH208-Contiene ácido sulfanílico. Puede provocar una reacción alérgica. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R 2.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 555 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis (separado lo antes posible de los hematíes). Proteger de la luz. Estabilidad de la muestra separada ya de los hematíes: 4 días a 2-8°C ó 2 meses a -20°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 555 nm (530-580)
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura: 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta: (Nota 2)

	Blanco	B. Total	Blanco	B. Directa
R 1 (D) (mL)	--	--	1,5	1,5
R 2 (T) (mL)	1,5	1,5	--	--
R 3 (µL)	--	50	--	50
Muestra ^(Nota 1) /Calibrador (µL)	100	100	100	100

- Mezclar e incubar exactamente **5 minutos** a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A).

CÁLCULOS

- Con Calibrador:

$$\frac{(A)Muestra - (A)BlancoMuestra}{(A)Calibrador - (A)BlancoCalibrador} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de bilirrubina}$$

- Con Factor:

$$((A) Muestra - (A) Blanco Muestra) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirrubina en la muestra}$$

$$\text{*Factor: } \frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco Calibrador}}$$

Factor de conversión: mg/dL x 17,1 = µmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: CONTROL Normal y Patológico (Ref. MO-165107 y MO-165108). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Bilirrubina Total en adultos	Hasta 1,10 mg/dL \cong 18,81 µmol/L
Bilirrubina Total en recién nacidos	<12 mg/dL \cong < 205,2 µmol/L
Bilirrubina Directa	Hasta 0,25 mg/dL \cong 4,27 µmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de (T) 0,00526 mg/dL (D) 0,07 mg/dL hasta el límite de linealidad de 18 mg/dL (T) y 20 mg/dL (D).

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Bilirrubina T	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Media (mg/dL)	1,53	5,06	1,53
SD	0,03	0,05	0,03	0,11
CV (%)	1,73	1,01	1,92	2,18

Bilirrubina D	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Media (mg/dL)	0,96	2,48	0,96
SD	0,024	0,051	0,043	0,035
CV (%)	2,52	2,06	4,49	1,41

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,05074 A (T).
1 mg/dL = 0,06856 A (D).

Exactitud: Los reactivos MONLABTEST no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina D fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,96
Ecuación de la recta de regresión: 0,71177x - 0,05267

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina T fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,991
Ecuación de la recta de regresión: y=0,82743x - 0,0382

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación de bilirrubina^{3,4}.

NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- Uso de pipeta desechable para la dispensación.
- Sólo para ser utilizado en la bilirrubina total.
- MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref.: MO-165074	R1: 1 x 125 mL
	R2: 1 x 125 mL
	R3: 1 x 10 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad

