



valtek

diagnostics

BILIRRUBINA TOTAL (DSA)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de Bilirrubina Total en suero o plasma.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La bilirrubina es producto de la degradación de la hemoglobina en el sistema retículo endotelial, la cual es transportada al hígado unida a albúmina. Esta bilirrubina, conocida como bilirrubina indirecta o libre, es insoluble en agua y es conjugada en el hígado con ácido glucurónico, siendo excretada hacia el intestino por vía biliar, donde es metabolizada por la flora bacteriana. La bilirrubina total corresponde a la suma de la bilirrubina indirecta o libre, y la bilirrubina conjugada o directa. Un aumento en la bilirrubina total es producto de una obstrucción en la vía biliar; hepatitis; cirrosis; enfermedad hemolítica y algunas deficiencias enzimáticas hereditarias. La bilirrubina indirecta o libre, se encuentra elevada por causas pre-hepáticas, tales como enfermedades hemolíticas, o bien problemas metabólicos intra-hepáticos que involucran el proceso de conjugación. En neonatos es importante el control de la bilirrubinemia, ya que la bilirrubina indirecta o libre es neurotóxica.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La mayoría de los métodos utilizados para la determinación de bilirrubina utilizan ácido sulfanílico diazotizado, formándose azobilirrubina coloreada. En medio acuoso sólo reacciona la bilirrubina conjugada o directa; para medir la bilirrubina total es necesario la incorporación de un acelerador, inicialmente se utilizó metanol (Malloy-Evelyn), y posteriormente benzoato de sodio (Jendrassic-Grof). Este método utiliza como acelerador un surfactante especial. La azobilirrubina formada es medida fotométricamente entre 546 nm, siendo la intensidad del color formado directamente proporcional a la cantidad de bilirrubina total presente en la muestra.

REACTIVOS

- Reactivo 1 (R1): solución estabilizada de ácido sulfanílico 5 mM en HCl 0.100 M y 1% (m/v) de surfactante.
- Reactivo 2 (R2): solución estabilizada de nitrito de sodio 72m M.

Conservados entre 2º y 8ºC., protegidos de la luz, sin abrir, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez abiertos son estables 40 días conservados entre 2º y 8ºC si permanece refrigerada en el analizador o en un frigorífico.

Evite la contaminación de los reactivos. No congelar.

PREPARACIÓN REACTIVO DE TRABAJO:

R1 y R2 están listos para su utilización.

MUESTRA

Utilizar suero o plasma (EDTA) libre de hemólisis. Utilice preferentemente suero recién extraído. Mantener las muestras protegidas de la luz.

Centrifugue las muestras que contienen precipitados antes de realizar el ensayo.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Analizador automático capaz de medir absorbancia a 546 nm (rango 526-566 nm), suero fisiológico, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a 37° C antes de realizar el ensayo.

	Desconocido	Blanco reactivo
Muestra o Calibrador (µL)	3.0	----
R1 (µL)	200	200
Agua destilada (µL)	----	3.0
Mezclar, incubar durante 5 minutos, a 37° C, leer la absorbancia del blanco y a continuación, añadir:		
R2 (µL)	50	50
Mezclar en profundidad, incubar durante 4 minutos, a 37° C y volver a leer la absorbancia.		

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un proceso de mantenimiento del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de rango.

CALCULOS

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador (mg/dL)}}{\text{Abs. Calibrador}}$
Bilirrubina Total (mg/dL) = Factor x Abs. Muestra

El autoanalizador calcula automáticamente la concentración de bilirrubina total de cada muestra.

Factor de conversión: mg/dL * 17.1 = µmol/l

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Bilirrubina Total por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.

- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Proteger las muestras de la luz directa, ya que puede ocasionar un descenso de hasta un 50% de la bilirrubina presente en la muestra en 1 hora.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Si el valor de la muestra supera 600 $\mu\text{mol/L}$ de Bilirrubina o en muestras severamente ictericas, se debe diluir 5 veces con una solución de 9 gr/L de NaCl y el resultado se multiplica por el factor de dilución

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

ESTUDIOS DE PRECISIÓN (de acuerdo a CLSI EP05-A2)

Los resultados se muestran en la siguiente tabla. U: $\mu\text{mol/l}$

Tipo de imprecisión	Nivel I			Nivel II		
	Media	DE	CV%	Media	DE	CV%
En secuencia	18.71	0.22	1.17	92.76	0.94	1.01
Entre secuencias		0.23	1.23		1.33	1.43
Entre días		0.29	1.53		1.49	1.61
En dispositivo		0.43	2.28		2.21	2.38

LINEALIDAD

La linealidad de este método es de 0.10 a 35.0 mg/dl

Para valores superiores a 35 mg/dl diluir la muestra por ejemplo 1:5 con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por cinco.

INTERFERENCIAS

Para este método de análisis de la bilirrubina total, se evaluó la interferencia producida por el ácido ascórbico y Lipemia en un analizador de la serie Mindray, aplicando un límite de aceptabilidad de un 10% de desviación de la media de control.

Concentración del analito	Substancia analizada	Efecto observado
10 mg/dl	Ácido Ascórbico	Sin interferencia significativa (dentro de $\pm 10\%$)
1000 mg/dl	Lipemia	Sin interferencia significativa (dentro de $\pm 10\%$)

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método de referencia (x) empleando un analizador de la serie Mindray. Con 40 muestras se obtuvo la siguiente correlación ($\mu\text{mol/l}$):

$$y = 1.0226x + 0.0547, R^2 = 0.9994$$

Todas las marcas de fábrica, nombres de productos y nombres comerciales son de propiedad de sus respectivas empresas.

LÍMITES DE DETECCIÓN

La concentración de Bilirrubina Total mínima detectable con un aceptable nivel de precisión (99.7%) es de 0.10 mg/dl

Todos los datos de desempeño han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Bilirrubina Total Adulto: 0.1 a 1.2 mg/dL (2 a 21 $\mu\text{mol/l}$)

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO
TBI0103 R1	4 x 32 ml
R2	4 x 8ml
TBI0102 R1	4 x 20 ml
R2	1 x 20ml

BIBLIOGRAFIA

1. Malloy H.T. & Evelyn K.A., J.Biol.Chem.119(481),1937.
2. Jendrassic L. & Grof P., Biochem Z. 291(81),1938.
3. Walters M. I. & Gerarde H. W., Microchem J.15(231)1970.
4. Young D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
5. R.. Rubén Gómez Riojaa,b,, M.J.. María Jesús Alsina Kirchnera,c, Virtudes Álvarez Funesa,d, Nuria Barba Meseguera,e, Mariano Cortés Riusa,f, M.A.. María Antonia Llopis Díaz,a,c, Cecilia Martínez Brua,f. Hemólisis en las muestras para diagnóstico. Revista del Laboratorio Clínico Vol. 2 Núm.4; 2009.

Fabricado por Mindray

REV Nº 3