



Bilirrubina Total

AA

Método DPD para la determinación de bilirrubina total en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La bilirrubina, compuesto de degradación de la hemoglobina, es captada por el hígado para su conjugación y excreción en la bilis. Las alteraciones hepatocelulares u obstrucciones biliares pueden provocar hiperbilirrubinemias. La eritroblastosis fetal o anemia hemolítica del recién nacido es una patología provocada por incompatibilidad materno-fetal en la que se produce una destrucción excesiva de glóbulos rojos. Esto resulta en un severo aumento de la bilirrubina sérica con el consecuente riesgo de difusión del pigmento al sistema nervioso central produciendo toxicidad, por lo que la determinación de la bilirrubina en estos niños recién nacidos resulta sumamente importante.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La bilirrubina indirecta, unida a la albúmina, es liberada por un tensioactivo. La bilirrubina total reacciona con la sal de diclorofenildiazonio (DPD) formando un azocompuesto de color rojo en solución ácida.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución acuosa conteniendo ácido clorhídrico 150 mmol/l y tensioactivo.

B. Reactivo B: solución acuosa conteniendo sal de diclorofenildiazonio 1,5 mmol/l en ácido clorhídrico 150 mmol/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Antes de utilizar, mezclar por inversión.

El **Reactivo B** puede presentar una ligera turbidez que no afecta su reactividad.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los reactivos son corrosivos. R34: provoca quemaduras. S24/25: evitar el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener de la manera habitual. Proteger de la luz natural o artificial envolviendo el tubo con papel negro.

b) Aditivos: en caso de que la muestra sea plasma, debe usarse heparina o EDTA para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por hemólisis hasta una concentración de hemoglobina de 500 mg/dl (0,5 g/dl) ni lipemia hasta una concentración de 500 mg/dl (5 g/l) de triglicéridos. No obstante, muestras hiperlipémicas o con hemólisis moderada pueden conducir a resultados erróneos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. En caso de no efectuarse el ensayo en el momento, el suero puede conservarse hasta 48 horas en refrigerador (2-10°C).

La acción de la luz es capaz de destruir hasta un 50% de la bilirrubina presente en la muestra, por lo que debe protegerse cuidadosamente.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Cronómetro
- Analizador automático

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 546 nm (520 - 550 nm)
- Temperatura de reacción: 25°C (30°C o 37°C)
- Tiempo de reacción: 5 minutos 30 segundos
- Volumen de muestra: 80 ul
- Volumen final de reacción: 1,28 ml

PROCEDIMIENTO

En 3 tubos marcados BR (Blanco de Reactivos), BM (Blanco de Muestra/Calibrador/Control) y M (Muestra/Calibrador/Control), colocar:

	BR	BM	M
Reactivo A	1 ml	1,2 ml	1 ml

Agua destilada	80 ul	-	-
Muestra	-	80 ul	80 ul
Mezclar e incubar exactamente 30 segundos. Luego agregar:			
Reactivo B	0,2 ml	-	0,2 ml
Mezclar e incubar 5 minutos. Inmediatamente después, leer en espectrofotómetro a 546 nm (520 - 550 nm), llevando a cero el aparato con el Blanco de Reactivo (BR). Lectura 1 (DO ₁): BM (Blanco de Muestra o BC (Blanco de Calibrador). Lectura 2 (DO ₂): M (Muestra) o C (Calibrador).			

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 30 segundos, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese tiempo.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Bilirrubina Total (mg/l)} = (\text{DO}_{2M} - \text{DO}_{1BM}) \times f$$

donde:

$$f = \frac{X' \text{ mg/l}}{\text{DO}_{2C} - \text{DO}_{1BC}}$$

(^o) concentración de bilirrubina total en el **Calibrador A plus** de Wiener lab.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de bilirrubina total, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Bilirrubina total en suero o plasma:

- Adultos: hasta 10 mg/l
- Recién nacidos:

	Nacidos a término	Prematuros
Sangre de cordón	< 20 mg/l	< 20 mg/l
hasta las 24 hs	14 - 87 mg/l	< 80 mg/l
hasta las 48 hs	34 - 115 mg/l	< 120 mg/l
del 3º al 5º día	15 - 120 mg/l	< 160 mg/l

Los valores comienzan luego a disminuir para alcanzar el nivel promedio del adulto al mes del nacimiento.

En los prematuros, los niveles tardan más en alcanzar la normalidad, dependiendo del grado de inmadurez hepática.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$$\text{Bilirrubina (umol/l)} = \text{Bilirrubina (mg/l)} \times 1,71$$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

La acción de la luz, tanto sobre las muestras como sobre las soluciones standard, es capaz de destruir en una hora hasta el 50% de la bilirrubina presente.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron tres niveles de concentración, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
8,5 mg/l	± 0,28 mg/l	3,29 %
46,1 mg/l	± 0,31 mg/l	0,67 %
164,5 mg/l	± 1,21 mg/l	0,74 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
8,5 mg/l	± 0,30 mg/l	3,53 %
46,1 mg/l	± 0,77 mg/l	1,67 %
164,5 mg/l	± 3,15 mg/l	1,92 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 250 mg/l de bilirrubina. Para valores superiores, repetir la determinación empleando muestra diluida 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica, multiplicando el resultado obtenido por 2 ó 4 según el caso.

c) Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será de 0,031 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración, debe usarse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1120008)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009334)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009244)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009605)

BIBLIOGRAFIA

- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 966, 2001.
- Weigl, E.; Bach, H.; Krieg, D. - Med. Klin. 70/15:664 (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Saunders Co., 3rd ed. (2001).

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Elaborado por:



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Nocivo



Uso diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Caústico



Contenido suficiente para <n> ensayos



Irritante



Fecha de caducidad



Consultar instrucciones de uso



Límite de temperatura (conservar a)



Calibrador



No congelar



Control



Riesgo biológico



Control Positivo



Volumen después de la reconstitución



Control Negativo



Contenido



Número de lote



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-12



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina