



Bilirrubina Directa

AA

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

SIGNIFICACION CLINICA

La bilirrubina es un producto de la degradación del grupo hemo por el sistema mononuclear fagocítico y existe en dos formas, conjugada y no conjugada. La bilirrubina no conjugada (indirecta) es transportada por la albúmina al hígado, donde se conjuga con ácido glucurónico en los hepatocitos convirtiéndose en bilirrubina conjugada (directa), permitiendo de este modo su excreción a través de la bilis.

Los niveles de bilirrubina directa se miden para investigar la causa de una ictericia pre-hepática, hepática o post-hepática. Niveles aumentados de bilirrubina directa se observan en enfermedades hepatocelulares tales como hepatitis y en casos de colestasis post-hepática.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La bilirrubina directa 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 17 mmol/l.

B. Reactivo B: solución acuosa conteniendo sal de diclorofenildiazonio 0,4 mmol/l en ácido clorhídrico 17 mmol/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar.

Reactivo B: listo para usar. Este reactivo puede presentar una ligera tonalidad pardusca que no afecta su reactividad.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". 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 para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Muestras con hemólisis producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por lipemia hasta 5 g/l (500 mg/dl) de triglicéridos. Sin embargo, muestras hiperlipémicas producen 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: 6 minutos
- 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 60 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 (DO₁): BM (Blanco de Muestra) o BC (Blanco de Calibrador). Lectura 2 (DO₂): M (Muestra) o C (Calibrador).

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Bilirrubina Directa (mg/l) = (DO_{2M} - DO_{1BM}) x f

donde:

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

(') concentración de bilirrubina directa 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 directa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Bilirrubina directa en suero o plasma:

Adultos: hasta 2 mg/l

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

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Bilirrubina (umol/l) = Bilirrubina (mg/l) x 1,71

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. La acción de la luz, tanto sobre los sueros 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 dos 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.
6,9 mg/l	± 0,075 mg/l	1,09%
24,3 mg/l	± 0,255 mg/l	1,05%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,15 mg/l	2,23%
24,3 mg/l	± 0,249 mg/l	1,03%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 100 mg/l (10 mg/dl) de bilirrubina directa. 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 0,012 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. 1120007)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009335)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009246)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009604)

BIBLIOGRAFIA

- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin.Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

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"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



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.
Cert. N°: 5709/05



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina