



Conservar entre: +2+8°C.



- Bilirubin D-DMSO -
- Bilirubin T-DMSO -

BILIRRUBINA DIRECTA BILIRRUBINA TOTAL DMSO. Colorimetrico

Presentación:

Cod. DG005-SP CONT: R1 1 x 50 mL.+ R2 1 x 50 mL. + R3 1 x 10 ml.
Cod. DG005 CONT: R1 1 x 125 mL.+ R2 1 x 125 mL. + R3 1 x 10 ml.
Cod. DG005-B CONT: R1 4 x 125 mL.+ R2 4 x 125 mL. + R3 4 x 10 ml.

Procedimiento

Determinación cuantitativa de bilirrubina.

Solo para uso *in vitro* en laboratorio clínico (IVD).

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, solo 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^{1,2,3}.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R.1 (Directa)	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	150 mmol/L
R.2 (Total)	Dimetilsulfóxido (DMSO)	7 mol/L
	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	50 mmol/L
R.3	Sodio nitrato	29 mmol/L
Opcional	Calibrador Bilirrubina	20 mg/dL

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 Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.
Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R 3.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, 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.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis¹ (separado lo antes posible de los hematies). Proteger de la luz. Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

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

Equipo general de laboratorio.

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:

	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:

$$\text{Bilirrubina mg/dL} = \frac{(A)\text{Muestra} - (A)\text{Blanco Muestra}}{(A)\text{Calibrador} - (A)\text{Blanco Calibrador}} \times \text{Conc. CAL.}$$

Con Factor:

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

Factor teórico: Bilirrubina (T) = 19,1; Bilirrubina (D) = 14

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

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable utilizar sueros de control, H Normal y H Patológico (DGQC003, DGQC004).

Si los valores obtenidos están fuera de rango, se deben revisar los reactivos, calibrador e instrumento utilizados.

Los sueros de control son recomendables para los controles de calidad internos. Cada laboratorio debería establecer su propio esquema de calidad y acciones correctivas si los controles no cumplen con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Bilirrubina Directa	Hasta 0,25 mg/dL. \cong 4,27 µmol/L.
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

(Estos valores son únicamente orientativos).

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

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: Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas.
Bilirrubina Directa: Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas^{1,6,7}.

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

CARACTERÍSTICAS DEL REACTIVO

Rango de Medida:

Bilirrubina Total: Desde el límite de detección de 0,099 mg/dL hasta el límite de linealidad de 18 mg/dL.

Bilirrubina Directa: Desde el límite de detección de 0,04 mg/dL hasta el límite de linealidad de 20 mg/dL.

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

Precisión:

	Intra-ensayo n= 20		Inter-ensayo n= 20	
Bilirrubina T	1.12	5.36	1.01	5.28
Media (mg/dL)	0.02	0.12	0.03	0.12
SD	2.33	2.27	2.70	2.32
CV	Bilirrubina D Intra-ensayo n= 20		Inter-ensayo n= 20	
Bilirrubina D	0.64	2.28	0.68	2.53
Media (mg/dL)	0.01	0.02	0.02	0.05
SD	1.91	1.10	2.51	1.95
CV				

Sensibilidad:

Bilirrubina Total 1 mg/dL. = 0.015 A
Bilirrubina Directa 1 mg/dL. = 0.073 A

Exactitud:

Los resultados obtenidos con los reactivos Diagnostilab no mostraron diferencias sistemáticas comparados con otros reactivos comerciales.

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

Coefficiente de correlación (r): 0.99 (D) / 0.996 (T)

Ecuación de la recta de regresión:

$$y = 0.9933x + 0.0039 \text{ (D)}$$

$$y = 0.0884x + 0.0208 \text{ (T)}$$

Las características del método pueden variar dependiendo del instrumento utilizado.

SUBSTANCIAS QUE INTERFIEREN

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina^{1,2,3}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación del bilirrubina^{4,5}.

NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- Factor*** = $\frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A)\text{Calibrador} - (A)\text{Blanco Calibrador}}$

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.
- Martínek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966; Acta 13: 61-170.
- Young DS. Effects of drugs on Clin 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.



CHEMELEX, S.A.
Pol. Ind. Can Castells. C / Industria 113, Nave J
08420 Canovelles -BARCELONA-
Tel- 34 93 849 17 35 Fax- 34 93 846 78 75

DGPLBSDTT36-E
Rev. 9 - 28/10/19