



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

BILIRRUBINA TOTAL

Método DCA

Reactivo para la determinación cuantitativa de la bilirrubina total en plasma o suero humano

REF 97443	R1 2 x 200 mL	Bilirrubina Total
	R2 1 x 10 mL	Solución Nitrito

CODIGO CNQ : BX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1)

Coexisten en el suero al menos cuatro clases de bilirrubinas: la **bilirrubina directa (BD)** corresponde a la bilirrubina llamada mono y diconjugada (β y γ Bilirrubina) así como a la fracción δ que se liga fuertemente a la albúmina; la bilirrubina α , no conjugada o bilirrubina indirecta, que se transporta por la albúmina. La **bilirrubina total (BT)** es la suma de estas diferentes formas.

Se distingue la ictericia donde predomina la bilirrubina indirecta (ictericia hemolítica, enfermedad de Biermer, Talasemia...etc) de la ictericia donde predomina la bilirrubina directa (obstrucción de las vías biliares extra o intrahepáticas, hepatitis viral...etc). Y finalmente, las ictericias donde están presentes las dos formas de bilirrubina (cirrosis, enfermedad de Dubin-Johnson).

PRINCIPIO (4) (5)

Método basado sobre el principio de Rand y Di Pasqua automatizado por Golub y al.

La reacción entre la BT y la dicloroanilina diazotada en presencia de un detergente o de un solvente conduce a un compuesto, la azobilirrubina del cual la absorbancia, directamente proporcional a la concentración en BT en la muestra, es medida a 550 nm (540-560).

REACTIVOS

Vial R1 BILIRRUBINA TOTAL

Brij 35	49 g/L
2-4 Dicloroanilina	2,7 mmol/L
Acido clorhídrico	290 mmol/L

Vial R2 SOLUCION NITRITO

Nitrito de sodio	2,3 mmol/L
------------------	------------

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados a personal cualificado, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.

Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El reactivo R1 esta listo para el uso.

Preparación del reactivo de trabajo: Mezclar 50 volúmenes de R1 con 1 volumen de R2 y **mantener a 2-8°C durante 15 minutos antes de utilizar.**

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar protegido de la luz, en el vial de origen bien cerrado a 2-8°C.

- En ausencia de contaminación, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja, si son utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas.
- Después de reconstitución, el reactivo de trabajo es estable en ausencia de contaminación 5 días a 18-25 °C y 3 semanas a 2-8 °C.
- No utilizar los reactivos si están turbios o si el reactivo de trabajo tiene una absorbancia > 0.100 a 550 nm.
- No utilizar el reactivo de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2) (6)

Suero o plasma (no hemolizados).

La bilirrubina es fotolábil. Almacenar la muestra protegida de la luz.

- Estabilidad en la muestra: 4 a 7 días a 2-8°C.
2 días a temperatura ambiente.

Especímenes pediátricos o ictericos: ver § **MODO DE EMPLEO.**

INTERFERENCIAS (3) (4)

La reacción de formación de la diazobilirrubina es sensible a las variaciones de temperatura y debe ser llevada a temperatura constante.

La hemólisis conlleva una subevaluación de los resultados.

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros o hemolizados de control normales y patológicos.

CALIBRACION (7)

- Utilizar el factor experimental indicado en el § **CALCULO** (Procedimiento n°1 y n°2).
- O BIOLABO Multicalibrator REF 95015 trazable sobre SRM 916a (Procedimiento n°1 únicamente)
- O cualquier calibrador trazable sobre un método o un material de referencia (Procedimiento n°1 únicamente).

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote del reactivo.
2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de suero de control recién reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD

CODIGO CNQ: BX

- BIOLABO EXATROL-N Tasa I [REF] 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Tasa II [REF] 95011.
- BIOLABO CONTROL PEDIATRICO [REF] 95403
- O cualquier otro suero de control titulado para este método y para el modo operatorio seleccionado.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza indicados, aplicar las siguientes acciones:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un suero de control recién reconstituido y repetir el test.
3. **Con factor:** Verificar los parámetros del análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra/volumen reactivo, tiempo de medida y factor de calibración.
4. Utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. **Con calibrador:** Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
6. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar de nuevo utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
7. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar al servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

Bilirrubina Total	(mg/dL)		[µmol/L]	
	Prematuro	a término	Prematuro	a término
Recién-nacido En cordón	< 2.0	< 2.0	[< 34]	[< 34]
0-1 día	< 8.0	1.4-8.7	[< 137]	[24-149]
1-2 días	< 12.0	3.4-11.5	[< 205]	[58-197]
3-5 días	< 16.0	1.5-12.0	[< 274]	[26-205]

Adulto (y niño > 5 días)	Bilirrubina Total	
	mg/dL	[µmol/L]
> 5 días -60 años	0.3-1.2	[5-21]
60-90 años	0.2-1.1	[3-19]
> 90 años	0.2-0.9	[3-15]

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores de referencia para la población estimada.

LIMITE DE LINEALIDAD

Modo de empleo n°1: hasta 20 mg/dL (342 µmol/L).

Más allá, **no diluir la muestra:** aplicar el modo de empleo n°2.

Modo de empleo n°2: hasta 100 mg/dL (1710 µmol/L)

Muestra pediátrica: aplicar el modo de empleo n°2

PRESTACIONES (PROCEDIMIENTO N°1)

Intra-serie N = 20	Tasa media	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa media	Tasa elevada
Media mg/dL	1.23	5.28	Media mg/dL	1.20	5.48
S.D. mg/dL	0.018	0.090	S.D. mg/dL	0.059	0.15
C.V. %	1.5	1.7	C.V. %	4.87	2.79

Límite de detección: aproximadamente 0.1 mg/dL

Sensibilidad para 1 mg/dL: 70 mAbs a 550 nm.

Comparación con un reactivo comercial:

$$y = 1,0042 x + 0,015 \quad r = 0,9980$$

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.

Procedimiento n°1:

Medir en tubos de ensayo:	BILIRRUBINA TOTAL	
	Blanco	Ensayo
Reactivo R1	1 mL	
Reactivo de trabajo		1 mL
Muestra	100 µL	100 µL

Mezclar y leer las absorbencias a 550 nm (540-560) contra el blanco después de 5 minutos de incubación a 37°C.

Procedimiento n°2: Muestras pediátricas o ictéricas

Medir en tubos de ensayo:	BILIRRUBINA TOTAL	
	Blanco	Ensayo
Reactivo R1	1 mL	
Reactivo de trabajo		1 mL
Muestra	20 µL	20 µL

Mezclar y leer las absorbencias a 550 nm (540-560) contra el blanco después de 5 minutos de incubación a 37°C.

Notas:

1. La coloración desarrollada por la reacción de la bilirrubina es estable 1 hora protegida de la luz.
2. Hacer un blanco de reactivo para tener en cuenta la coloración eventual del reactivo de trabajo.
3. Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar al servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

Con calibrador (Procedimiento n°1 únicamente):

$$\text{Resultado} = \frac{\text{Abs (Ensayo - Blanco) muestra}}{\text{Abs (Ensayo- Blanco) calibrador}} \times \text{concentración del calibrador}$$

Con factor:

$$\text{Procedimiento n°1 : } \begin{aligned} \text{mg/dL} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 14,8^* \\ \text{µmol/L} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 253^* \end{aligned}$$

$$\text{Procedimiento n°2 : } \begin{aligned} \text{mg/dL} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 68,6^* \\ \text{µmol/L} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 1173^* \end{aligned}$$

* Estos factores se dan a título indicativo y pueden ligeramente variar según el aparato utilizado y el lote de reactivo. Se aconseja verificarlos con la ayuda de un suero de control a tasa elevada (Procedimiento n°1: utilizar BIOLABO EXATROL-P, Procedimiento n°2: utilizar BIOLABO CONTROL PEDIATRICO).

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1133-1137.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 172-177
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p.3-90 a 3-110
- (4) RAND R. N. and DI PASQUA A. *A new diazo method for determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) 8, n°6, p.570-578*
- (5) GOLUB M. : *An automated method for determination of serum bilirubin. Clin. Chem. (1964) 10, p.399-405*
- (6) Henry RJ, *Clin Chem : Principles and technics. Harper and Row, p.592 (1965).*
- (7) SRM: Standard Reference Material®