



**BIOLABO**  
www.biolabo.fr

**FABRICANTE:**  
**BIOLABO SAS,**

Les Hautes Rives  
02160, Maizy, France

# BILIRRUBINA TOTAL Y DIRECTA

## Método Acido sulfanílico

Reactivo para la determinación cuantitativa de la bilirrubina total (acelerador: DMSO) y directa en plasma o suero humano.

REF 80403 R1 1 x 200 mL R2 1 x 200 mL R3 1 x 40 mL	REF 80443 R1 2 x 200 mL R3 1 x 40 mL	REF 80553 R2 2 x 200 mL R3 1 x 40 mL
--	--------------------------------------	--------------------------------------

### SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256

support@biolabo.fr

Última versión: www.biolabo.fr



Made In France

I: corresponde a las modificaciones significativas

### USO PREVISTO

Este reactivo está reservado para un uso profesional en laboratorio (método automatizado).

Permite medir la cantidad de la bilirrubina total y directa en el suero y plasma humano.

### GENERALIDADES (1) (6)

Por lo menos cuatro tipos de bilirrubinas coexisten en el suero: la bilirrubina directa (BD) corresponde a la bilirrubina llamada mono y di conjugada ( $\beta$  y  $\gamma$  Bilirrubina) al igual que a la fracción  $\delta$  que está muy fuertemente ligada a la albumina; la bilirrubina  $\alpha$ , no conjugada o bilirrubina indirecta, que esta transportada por la albumina. La bilirrubina total (BT) es la suma de estas diferentes formas.

### PRINCIPIO (4) (5)

Reacción entre la bilirrubina y el ácido sulfanílico diazotado que conduce a un compuesto, la azobilirrubina, coloreado en medio muy ácido o básico.

Principio de Mallos-Evelyn modificado por Walters y al: en solución acuosa, solo la BD reacciona. Para determinar la BT es necesario romper la relación entre la bilirrubina indirecta y la albúmina. Esta etapa es realizada por la adición de dimetilsulfóxido (DMSO).

La absorbencia de la azobilirrubina así producida es proporcional a la concentración en bilirrubina y es medida a 550 nm (530-580).

### REACTIVOS

#### R1 BILIRRUBINA TOTAL

Ácido sulfanílico 30 mmol/L

DMSO 7 mol/L

Ácido clorhídrico 130 mmol/L

EUH210: Ficha de datos de seguridad disponible por petición.

EUH208: Contiene ácido sulfanílico (sustancia sensibilizante). Puede producir una reacción alérgica.

#### R2 BILIRUBINA DIRECTA

Ácido sulfanílico 30 mmol/L

Ácido clorhídrico 130 mmol/L

EUH210: Ficha de datos de seguridad disponible por petición.

EUH208: Contiene ácido sulfanílico (sustancia sensibilizante). Puede producir una reacción alérgica.

#### R3 BILIRRUBINA TOTAL Y DIRECTA

Nitrito de sodio 0,74 mmol/L

Conforme al reglamento 1272/2008, estos reactivos no están clasificados como peligrosos.

### PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados a personal cualificado, para uso in vitro (non pipetear con la boca).

- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición o sobre www.biolabo.fr
- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

### PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Listos para el uso.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Almacenar protegido de la luz, en el vial de origen bien cerrado a 2-8°C, los reactivos son estables, si son utilizados y conservados en las condiciones preconizadas:**

Antes y después de abrir (en ausencia de contaminación):

- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja
- No utilizar los reactivos si están turbios o muy coloreados (Abs.> 0.100 a 550 nm).

### TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2) (7)

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 TA.

### LIMITAS (3)

La reacción de formación de la diazobilirrubina es sensible a las variaciones de temperatura y debe ser puesta a temperatura constante. Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

### REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

- Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
- Espectrofotómetro o analizador de bioquímica clínica.

Fabricante	Fecha de caducidad	Uso in vitro	Temperatura de conservación	Agua desmineralizada	Riesgo biológico
Referencia del producto	Consultar instrucciones	Número de lote	Protegido de la luz	Suficiente para	Diluir con

## CALIBRACION (8)

- Factor experimental § **CALCULO** o
- REF 95015 Multicalibrador trazable sobre Masterlot interno (re acordado sobre SRM 916).

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

## INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

Bilirrubina total	(mg/dL)		[µmol/L]	
	Prematuro	a término	Prematuro	a término
Recién-nacido				
En el 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		Bilirrubina directa	
	mg/dL	[µmol/L]	mg/dL	[µmol/L]
> 5 días-60 años	0.3-1.2	[5-21]	< 0.2	[< 3.4]
60-90 años	0,2-1.1	[3-19]	< 0,2	[< 3.4]
> 90 años	0.2-0.9	[3-15]	< 0.2	[< 3.4]

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

## PRESTACIONES

Sobre KENZA 240TX, 546 nm, 37°C

Límite de detección:

BT: aproximadamente 0.28 mg/dL, BD: aproximadamente 0.01 mg/dL

Dominio de medida:

BT: entre 0.45 y 20 mg/dL, BD: entre 0.60 y 8.0 mg/dL

Precisión BT:

Intra-serie N = 20	Tasa	Tasa	Tasa	Inter-serie N = 20	Tasa	Tasa	Tasa
	1	2	3		1	2	3
Media: (mg/dL)	1.06	3.14	14.14	Media (mg/dL)	1.03	3.15	13.73
S.D.	0.03	0.06	0.12	S.D.	0.05	0.10	0.37
C.V. %	2.5	2.0	0.9	C.V. %	4.9	3.3	2.7

Precisión BB:

Intra-serie N = 20	Tasa	Tasa	Tasa	Inter-serie N = 20	Tasa	Tasa	Tasa
	1	2	3		1	2	3
Media: (mg/dL)	0.76	1.10	2.06	Media (mg/dL)	0.74	1.08	2.01
S.D.	0.02	0.02	0.03	S.D.	0.02	0.04	0.05
C.V. %	2.8	2.2	1.3	C.V. %	2.6	3.5	2.5

Comparación con reactivo líquido comercial:

BT: Evaluación clínica (n=99) entre 0.31 y 9.26 mg/dL  
 $y = 0,9446x - 0,0546$   $r = 0,9960$

BD: Estudios sobre suero humano (n=92) entre 0.1 y 7.4 mg/dL  
 $y = 0,9981x - 0,0001$   $r = 0,9975$

Sensibilidad analítica:

BT: aproximadamente 0.0853 abs para 1 mg/dL

BD: aproximadamente 0.0819 abs para 1 mg/dL

Interferencias:	Bilirrubina total	Bilirrubina directa
Turbidez	Interferencia negativa desde 0.052 abs	Interferencia negativa desde 0.067 abs
Ácido ascórbico	Interferencia negativa desde 2500 mg/dL	Interferencia negativa desde 2500 mg/dL
Hemoglobina	No hay interferencia hasta 385 µmol/L	Interferencia negativa desde 57 µmol/L
Glucosa	No hay interferencia hasta 1059 mg/dL	No hay interferencia hasta 1059 mg/dL

Otras sustancias son susceptibles de interferir (ver §Límites)

Estabilidad a bordo:

BT y BD: los reactivos separados son estables 60 días.

Estabilidad de calibración: BT y BD: 60 días

Efectuar una nueva calibración en caso de cambio de lote o de reactivo, si los resultados de los controles están fuera del intervalo establecido, y después de una operación de mantenimiento

Nota: prestaciones con método pediátrico disponibles por petición.

## CONTROL DE CALIDAD

- REF 95010 EXATROL-N Tasa 1
- REF 95011 EXATROL-P Tasa 2
- Cualquier otro suero de control titulado para este método
- 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 recomendados:

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

## MODO DE EMPLEO

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

	Prueba	Blanco
Reactivo R1(BT) o R2 (BD)	1000 µL	1000 µL
Agua destilada		50 µL
Reactivo R3	50 µL	
Mezclar y añadir		
Standard, Control, Muestra	100 µL	100 µL

Hacer el cero sobre agua destilada y escurrir bien la cubeta. Leer primero todos los blancos de una serie y todas las pruebas vaciando bien la cubeta entre cada tubo, pero sin enjuagar con agua: La mezcla de la solución reaccional provoca estrías. Mezclar bien y poner en marcha un cronómetro en el momento de la adición de la muestra.  
Leer las absorbencias a 550 nm (530-580) contra los blancos  
**BT:** ≥ 3 minutos a 37°C o ≥ 5 minutos a temperatura ambiente.  
**BD:** a exactamente 3 minutos a 37°C o 5 minutos a temperatura ambiente

- Las prestaciones en técnica manual serán establecidas por el usuario.
- Las aplicaciones KENZA y otras propuestas de aplicaciones están disponibles por petición.
- Muestra pediátrica: dividir el volumen muestra por 5.

## CALCULO

**Con sérico Multicalibrador:**

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

**Con factor** (1 cm de trayecto óptico, a 37°C, 340 nm):

$$\text{mg/dL} = [\text{Abs. ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 11,4^*$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 195^*$$

**Método pediátrico:** multiplicar el factor por 5 (volumen muestra)

\* Estos factores se dan a título indicativo.

## BIBLIOGRAFIA

- TIETZ N.W. *Textbook of clinical chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1133-1137.
- Clinical Guide to Laboratory Test*, 4<sup>th</sup> Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 172-177.
- YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4<sup>th</sup> Ed. (1995) p.3-90 a 3-110
- MALLOY H.T., EVELYN K., *J Biol. Chem.*(1937), 119, p.481-490
- WALTERS M, GERARDE H, *Microchem J* (1970) 15, p.231-243
- BERNARD S., *Biochimie clinique*, 2<sup>ème</sup> éd. Maloine, (1989), p.127-129 et p.280-282.
- Henry RJ, *Clin Chem: Principles and technics*. Harper and Row,p.592 (1965).
- SRM: Standard Reference Material®