

Reactivo de Bilirrubina Total

Método del diazo ácido

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-25 °C
Intervalo Lineal	:	Hasta 340 µmol/L (20 mg/dL)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Punto fina
Preparación del reactivo	:	Añada nitrito sódico (NIT) en la proporción 1:50

IVD

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado	Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro	Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote	PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo	Fabricado por
<i>i</i>	Consulte las instrucciones de uso	Xi - Irritante
Xn	Nocivo	NIT
REAG	Reactivo de Bilirrubina Total	Reactivo de Nitrito di Sodio

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de bilirrubina total en el suero humano.

RELEVANCIA CLÍNICA

Los eritrocitos, al final de su vida en la circulación sanguínea, se degradan en el sistema reticuloendotelial, principalmente en el bazo. El grupo hemo resultante, una vez eliminado el hierro, se convierte en bilirrubina. Este proceso es el responsable de aproximadamente el 80 por ciento de los 500 µmol (300 mg) de bilirrubina formados diariamente. Otras fuentes de bilirrubina incluyen la degradación de mioglobina y citocromos y el catabolismo de los eritrocitos inmaduros en la médula ósea.

Una vez formada, la bilirrubina se transporta hasta el hígado ligada a la albúmina, puesto que no es hidrosoluble. Esta fracción de bilirrubina se denomina bilirrubina indirecta o no conjugada. En el hígado la bilirrubina se conjuga con el ácido glucurónico (mono y di glucurónidos) para formar bilirrubina conjugada mediante la enzima uridindifosfato glucuronil transferasa. La bilirrubina conjugada o bilirrubina directa se excreta por medio del sistema biliar en el intestino, donde se metaboliza por la acción de bacterias para producir un grupo de productos conocidos colectivamente como estercobilinógeno. La eliminación es casi completa y los niveles plasmáticos son despreciables.

La bilirrubina total es la suma de las fracciones no conjugada y conjugada. Los niveles de bilirrubina total son elevados en estados que provoquen la obstrucción del conducto biliar, hepatitis, cirrosis, en trastornos hemolíticos y en varias deficiencias enzimáticas hereditarias.

Los niveles de bilirrubina indirecta aumentan por causas prehepáticas tales como trastornos hemolíticos o enfermedades hepáticas que tengan como resultado un deterioro de la entrada, transporte o conjugación dentro del hígado.

El seguimiento de la bilirrubina en los neonatos, en particular si son prematuros, resulta de particular importancia. Dado que en tales casos la gestión hepática de la bilirrubina es a menudo inmadura, es común la aparición de ictericia debida a un aumento de los niveles de bilirrubina no conjugada. La bilirrubina no conjugada, si no está ligada a la albúmina, es capaz de cruzar la barrera sanguínea cerebral, aumentando de este modo el peligro de ocasionar un daño cerebral.¹

METODOLOGÍA

La mayoría de los métodos utilizados actualmente para analizar la bilirrubina se basan en la reacción entre la bilirrubina y soluciones de ácido sulfanílico diazotado. En solución acuosa, sólo la bilirrubina directa (conjugada) reaccionará de este modo. Por consiguiente, a fin de estimar la bilirrubina total, la bilirrubina no conjugada debe liberarse de su unión a la albúmina y convertirse en hidrosoluble. Esto se consigue mediante la adición de un acelerante o disolvente. En el método ampliamente utilizado de Malloy-Evelyn², se emplea metanol, mientras que en el método de Jendrassik-Grof³ se utiliza cafeína / benzoato sódico.

El reactivo de bilirrubina total es una modificación del método de Pearlman y Lee⁴ en el que se emplea un tensioactivo como solubilizante. La bilirrubina conjugada y la no conjugada solubilizada reaccionan con el ácido sulfanílico diazotado produciendo una azobilirrubina ácida, cuya absorbancia es proporcional a la concentración de bilirrubina de la muestra y puede medirse a 550 nm. Para los analizadores dicromáticos, la lectura del blanco se debe realizar a 660 nm.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos	Concentración
Reactivo de Bilirrubina Total	
Tensioactivo	1%
Acido clorhídrico	100 mmol/L
Acido sulfanílico	5 mmol/L
Reactivo de Nitrito di Sodio	
Nitrito de sodio	144 mmol/L

AVISO: No pipetear con la boca. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de Bilirrubina Total.

Reactivo de Bilirrubina Total: Irritante!

R38	Irrita la piel.
R41	Riesgo de lesiones oculares graves.
S24/25	Evítase 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.

Reactivo de Nitrito di Sodio: Nocivo!

R22	Nocivo por ingestión.
S45	En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Añada Reactivo de nitrito de sodio al Reactivo de bilirrubina total en la proporción 1:50. Por ejemplo, a 10 mL de Reactivo de bilirrubina directa añada 0,2 mL de nitrito de sodio (esto resulta aproximadamente equivalente a 6 gotas, pero se recomienda que el operador lo verifique). Para conocer las instrucciones de blanco de muestra consulte la aplicación apropiada del instrumento.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Cuando se almacena a 2-25 °C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco y de la caja del kit.

Reactivo de trabajo:

El reactivo de trabajo es estable durante al menos 21 días a 2-8 °C

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo > 0,1 AU a 550nm, y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Almacenamiento: Las muestras deben mantenerse alejadas de una iluminación intensa, dado que la bilirrubina es fotolábil. Las muestras pueden conservarse refrigeradas durante 3 días.⁵

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Si se requieren, pipetas para administrar volúmenes medidos con precisión.
- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (30/37 °C) y de medir la absorbancia a 550 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas de muestra.
- Material de control de ensayos normales y anormales.
- Un calibrador o un patrón acuoso de bilirrubina total adecuado.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30/37 °C
Longitud de onda primaria	550 nm
Longitud de onda secundaria	660 nm
Tipo de ensayo	Punto final
Dirección	Incremento
Muestra: Proporción de reactivo	1 : 20
p.ej. Vol de muestra	10 µL
Vol de reactivo	200 µL
Tiempo de incubación	600 segundos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 AU
(550 nm, paso de luz de 1 cm)	Alto 0,1 AU

Linealidad	340 µmol/L (20 mg/dL)
Sensibilidad Analítica	2,5 ΔmAbs por µmol/L
(550 nm, paso de luz de 1cm)	43 ΔmAbs por mg/dL

CÁLCULOS

Los resultados se calculan, en general, de forma automática por el instrumento, como sigue:

$$\text{Bilirrubina Total} = \frac{\text{Absorbancia de desconocido}}{\text{Absorbancia del calibrador}} \times \text{Valor del calibrador}$$

Ejemplo:

Absorbancia del calibrador	=	0,24
Absorbancia de desconocido	=	0,13
Valor del calibrador	=	95 µmol/L (5,6 mg/dL)

$$\text{Bilirrubina Total} = \frac{0,13}{0,24} \times 95 = 52 \mu\text{mol/L}$$

$$\text{Bilirrubina Total} = \frac{0,13}{0,24} \times 5,6 = 3,0 \text{ mg/dL}$$

NOTAS

- Las muestras con valores mayores de 340 µmol/L (20 mg/dL) se deben diluir y analizarse de nuevo. Multiplique los resultados por el factor de dilución.
- Conversione unità: µmol/L x 0,0585 = mg/dL

CALIBRACIÓN

Es necesario calibrar. Se recomienda un patrón acuoso o un calibrador basado en suero, con un valor asignado comparable con un patrón primario (p.ej. NIST o IRMM). Para la frecuencia de calibración de los instrumentos automatizados, consulte las especificaciones del fabricante del instrumento.

No obstante, la estabilidad de la calibración depende del funcionamiento óptimo del instrumento y del uso de reactivos que se hayan almacenado según las recomendaciones de la sección de estabilidad y almacenamiento de esta hoja de datos. Se recomienda recalibrar en cualquier momento si ocurre alguno de estos sucesos:-

- El número de lote del reactivo cambia.
- Se realiza un mantenimiento preventivo o se sustituye un componente crítico.
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala y un nuevo vial de control no rectifica el problema.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o sustituir un componente crítico.
- Con cada calibración.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control. En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, recalibrar con calibrador fresco, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, realizar un calibrado con reactivo nuevo, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la lipemia y se obtuvieron los siguientes resultados.
Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 3,2 mmol/L (280 mg/dL).
- Debe evitarse la hemólisis, dado que produce valores falsamente bajos con los métodos diazo.⁵
- Young DS[®] ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁵

Adultos y lactantes mayores de 1 mes:
3,4 - 17,1 µmol/L (0,2 - 1,0 mg/dL)

Neonatos prematuros:		
Hasta 24 horas	17 - 137 µmol/L	(1 - 8 mg/dL)
Hasta 48 horas	103 - 205 µmol/L	(6 - 12 mg/dL)
Días 3-5	171 - 239 µmol/L	(10 - 14 mg/dL)

Neonatos normales:		
Hasta 24 horas	34 - 103 µmol/L	(2 - 6 mg/dL)
Hasta 48 horas	103 - 171 µmol/L	(6 - 10 mg/dL)
Días 3-5	68 - 137 µmol/L	(4 - 8 mg/dL)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁷

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el Reactivo de Bilirrubina Total en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.⁸

Intraanálisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (µmol/L / mg/dL)	23 / 1,33	46 / 2,71
SD (µmol/L / mg/dL)	0,5 / 0,03	0,7 / 0,04
CV (%)	2,6	1,5
Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (µmol/L / mg/dL)	23 / 1,33	46 / 2,71
SD (µmol/L / mg/dL)	1,0 / 0,06	2,4 / 0,14
CV (%)	4,8	5,0

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de bilirrubina total similar disponible comercialmente. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	929
Intervalo de los resultados de las muestras	0,5-485 µmol/L (0,03-28 mg/dL)
Media de los resultados	21 µmol/L (1,2 mg/dL)
Media de los resultados de bilirrubina total	21 µmol/L (1,2 mg/dL)
Pendiente	1,10
Ordenada en el origen	-2,09 µmol/L (-0,12 mg/dL)
Coefficiente de correlación	1,00

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 340 µmol/L (20 mg/dL).


SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 2,5 ΔmAbs por µmol/L o 43 ΔmAbs por mg/dL (paso de luz 1cm, 550 nm).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR. "Liver Disease and Gall Stones" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke 1979; Chap XIII; 286-8.
- Malloy HT, Evelyn KA. J Biol Chem 1937; 119:481-90.
- Jendrassik L, Grof B. Biochem Zeit 1938; 297:81-9.
- Pearlman FC, Lee RT. Clin Chem 1974; 20:447-53.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition. Burtis CS and Ashwood ER (Eds), WB Saunders Company, 1994.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition. AACC Press, 1990.
- Watchel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine, 1995; 26: 593-7.
- National Committee for Clinical Chemistry Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF	Información de Pedidos		
	No de Catalogue	REAG	NIT
	TR32321	2 x 125 mL	1 x 8 mL
	TR32326	2 x 250 mL	2 x 10 mL
	TR32398	2 x 500 mL	1 x 20 mL
	TL32301 (ILab 600)	6 x 100 mL	1 x 20 mL
	TH32301 (Hitachi)	4 x 50 mL	1 x 10 mL
	TY32301 (Hitachi)	4 x 50 mL	1 x 10 mL