

Reactivo de la Bilirrubina Total

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 342 µmol/L (20,0 mg/dL)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Punto fina
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

PROPOSITO DE USO

Para uso de diagnóstico in vitro. Para la determinación cuantitativa de bilirrubina total en suero.

RESUMEN Y EXPLICACION

Bilirrubina, un producto de la destrucción de los glóbulos rojos, es un pigmento biliar que se encuentra en la sangre. La expectativa de la vida promedio de los glóbulos rojos es de 120 días. Aproximadamente 6 gm de hemoglobina son liberados por día debido a su desintegración. Las células reticuloendoteliales del bazo, huesos e hígado fagocitan los glóbulos rojos envejecidos y convierten la hemoglobina en bilirrubina.¹ La albúmina del suero, se une a la bilirrubina y la transportan al hígado donde es metabolizada.

Elevados niveles de bilirrubina en suero pueden indicar un deterioro de la función excretora del hígado, hemólisis excesiva u obstrucción del tracto biliar.² También, hiperbilirrubinemia puede ser asociada con ictericia obstructiva, ictericia hemolítica y hepática, hepatitis infecciosa y anemia perniciosas.

PRINCIPIO

Este reactivo es una variación del método clásico de Van de Bergh y Mueller.³ La bilirrubina total, ambas conjugada y libre, es medida utilizando una sal de diazonio estable de 3,5-dicloroanilina, que reacciona con la bilirrubina para formar azobilirrubina con un máximo de absorbancia a 540 nm. Los surfactantes son utilizados como aceleradores de la reacción. La concentración de la bilirrubina es directamente proporcional a la absorbancia de la azobilirrubina medida espectrofotométricamente a 540 nm.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingresantes activos

3,5-diclorofenil tetrafluoroborato de diazonio
surfactante

Concentración

0,36 mmol/l

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo de la Bilirrubina Total.

R36 Irrita los ojos.

S23 No respirar los vapores.

S26 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

PREPARACION DEL REACTIVO

El reactivo está listo para ser utilizado tal y como es suministrado.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

El reactivo es estable hasta la fecha de expiración impresa en la etiqueta si se almacena entre 2°C y 8°C, y se mantiene muy bien cerrado. Proteja el reactivo de la luz.

Indicios del deterioro del reactivo:

1. El reactivo debe ser una solución clara, incolora a amarillo pálido.
2. Turbidez o fallar en obtener los valores específicos para los sueros control puede indicar deterioro del reactivo.
3. Si la absorbancia del reactivo es mayor que 0,100 a 540 nm, el reactivo puede haberse deteriorado y no debe utilizarse.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: La muestra recomendada es suero fresco y no hemolizado.¹ Separar rápidamente el suero de las células para minimizar la hemólisis.

Almacenamiento: Las muestras de suero deben ser protegidas de la luz. Es posible que la luz del sol directa y la exposición a luz blanca puedan producir un 50% de disminución en bilirrubina en una hora.¹ Se recomienda que las muestras sean colectadas y procesadas como se describe en NCCLS⁴ (H3, H4, H18) o en publicaciones equivalentes. La bilirrubina en suero es estable durante una semana cuando es almacenada a temperatura entre 2°C y 8°C y aproximadamente tres meses cuando se almacenada congelada y es protegida de la luz.¹

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
	Consulte las instrucciones de uso		Xi - Irritante

MATERIALES SUMINISTRADOS

Reactivo Bilirrubina Total

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Data-Cal de Thermo o equivalente.
2. Controles de Thermo Normal y Anormal o equivalente.
3. Pipetas para descargar volúmenes exactos de 1,0 ml.
4. Micropipetas para descargar volúmenes de 0,05 ml.
5. Instrumento calibrado para leer la absorbancia a 540 nm.
6. Analizador Hitachi 704[®] o equivalente con su manual y accesorios.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

PARAMETROS EL INSTRUMENTO HITACHI 704

Prueba	TBil
Análisis	1 Punto: 6-0
Volumen de la muestra	20
Volumen R1	400-20-NO
Volumen R2	0-20-NO
Largo de Onda	660/546
Método Calib.	Lineal-O
Estándar (1) Conc.-Pos.	0-1
Estándar (2) Conc.-Pos.	()-2
Estándar (3) Conc.-Pos.	()-3
Estándar (4) Conc.-Pos.	()-4
Estándar (5) Conc.-Pos.	()-5
Estándar (6) Conc.-Pos.	()-6
Unidades	mg/dL
Límite D.E.	0,1
Límite Duplicado	200
Límite Sensitividad	0
Límite Abs (Aun/Dism.)	0 (Aumenta)
Límite Prozona	0 (Bajo)
Valores Esperados	0,0-1,5
Factor del Instrumento	1,0

Los parámetros anteriores deben utilizarse cuando se programe el Hitachi 704. Consulte su manual del instrumento para más instrucciones.

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Para cada muestra administrar 1,0 ml del reactivo Bilirrubina Total en tubos de ensayo rotulados.
2. Agregar 0,05 ml de calibrador, control y muestra a sus respectivos tubos. Mezclar inmediatamente. Utilice 0,05 ml de agua desionizada como muestra para el blanco del reactivo.
3. Incubar a temperatura de reacción durante 5 minutos.
4. Fijar el largo de onda del instrumento a 540 nm. Calibrará cero con el blanco del reactivo.
5. Leer y registrar la absorbancia de las muestras.

BLANCO SERICO

Los blancos sérico son requeridos para todas las muestras túrbidas, ictericas, lipémicas y hemolizadas. Estos incluyen muchos controles séricos y calibradores.

1. Para cada muestra que va a ser corregida con el blanco distribuir 1,0 ml de solución salina normal a tubos de ensayo rotulados.
2. Agregar 0,05 ml de cada muestra que va a ser corregida con el blanco. Mezclar e incubar durante 5 minutos a la temperatura de reacción.
3. Fijar el largo de onda del instrumento a 540 nm. Calibrará cero con solución salina normal.
4. Leer y registrar la absorbancia del blanco. Sustraer esta absorbancia de la absorbancia obtenida en el paso número 5 de la sección del Procedimiento Manual. Esta absorbancia corregida se utilizará en el cálculo de los resultados.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA FINAL DE LA REACCION

El producto final coloreado es estable durante 60 minutos a temperatura ambiente controlada (15°C y 30°C). El Hitachi 704 lee cada estándar y muestra a al mismo tiempo.

CALCULO DE RESULTADOS

Utilice la siguiente ecuación para calcular la concentración de bilirrubina total en la muestra.

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

Ejemplo:

Absorbancia de desconocido = 0,052
Absorbancia del calibrador = 0,180
Valor del calibrador = 5,2 mg/dL

$$\text{Bilirrubina Total} = \frac{0,052}{0,180} \times 5,2 = 1,5 \text{ mg/dL}$$

NOTAS

Conversión de unidades: mg/dL x 17,1 = µmol/L.

CALIBRACION

No es necesario establecer una curva estándar con este procedimiento, puesto que la reacción es lineal hasta 342 µmol/L (20,0 mg/dL). Sin embargo, un blanco del reactivo y calibrador deben ser empleados con cada grupo de muestras desconocidas.

CONTROL DE CALIDAD

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

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

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 una calibración con reactivo recién preparado, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

1. Véase las secciones de Almacenaje y Estabilidad, Deterioro, Recolección de Muestras, Substancias que Podrían Interferir, Almacenaje de las Muestras, Estabilidad de la Mezcla Final de la Reacción y Linealidad para limitaciones de este procedimiento.
2. Los calibradores de bilirrubina en cloroformo no deben ser utilizados en este procedimiento puesto que no se han utilizado solventes miscibles con cloroformo.
3. La bilirrubina es extremadamente sensible a la luz. Los calibradores, controles, y especímenes desconocidos deben ser almacenados protegidos de la luz para óptima estabilidad.

SUBSTANCIAS QUE PODRIAN INTERFERIR

1. La lipemia hasta 1335 mg/dL de triglicéridos no interfiere con este procedimiento cuando se utiliza en el Hitachi 704 o en un instrumento manual.
2. Cuando se utiliza con el Hitachi 704, niveles de 83 mg/dL o mayores de hemoglobina causan una interferencia significativa a un nivel de 1,1 mg/dL de bilirrubina. Un nivel de hasta 398 mg/dL de hemoglobina no tiene interferencia significativa a un nivel de 5,1 mg/dL de bilirrubina. Cuando se utiliza manual, niveles de 83 mg/dL o mayores de hemoglobina causan una interferencia significativa a un nivel de 1,3 mg/dL de bilirrubina. Un nivel de hasta 204 mg/dL de hemoglobina no causa una interferencia significativa a un nivel de 5,3 mg/dL de bilirrubina.

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

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



3. Young ha revisado los efectos de drogas en los niveles de bilirrubina en suero.⁵

VALORES ESPERADOS

RANGO NORMAL:⁶ 0,0 - 1,5 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 determine un intervalo de referencia para la población que atiende.⁷

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento fueron establecidas en un analizador Hitachi 704 y utilizando el procedimiento manual. El usuario debe establecer sus propias características de funcionamiento si el producto es utilizado en otro analizador.

PRECISION

La reproducibilidad dentro de la corrida se obtuvo probando tres niveles del suero control 20 veces.

Dentro de la Corrida/Hitachi 704	Media	Desv. Est.	CV%
BAJO	0,60 mg/dL	0,00	0,00
MODERADO	5,90 mg/dL	0,05	0,85
ALTO	15,20 mg/dL	0,10	0,60

Dentro de la Corrida/Manual	Media	Desv. Est.	CV%
BAJO	1,0 mg/dL	0,05	5,00
MODERADO	5,9 mg/dL	0,13	2,20
ALTO	14,7 mg/dL	0,23	1,56

La reproducibilidad de una corrida a otra se obtuvo probando tres niveles del suero control 10 veces en un período de 4 días.

Corrida a Corrida/Hitachi 704	Media	Desv. Est.	CV%
BAJO	0,63 mg/dL	0,07	1,11
MODERADO	5,70 mg/dL	0,07	1,20
ALTO	14,50 mg/dL	0,17	1,20

Corrida a Corrida/Manual	Media	Desv. Est.	CV%
BAJO	1,1 mg/dL	0,07	6,40
MODERADO	6,0 mg/dL	0,05	0,83
ALTO	15,2 mg/dL	0,32	2,10

COMPARACION

Una comparación de la Bilirrubina Total #1245 (y) con la Bilirrubina Total #1240 (x) se llevo a cabo en el Hitachi 704 en 169 muestras en un rango de 0,1 a 19,5 mg/dL. La ecuación de correlación resultante fue $y = 1,00x - 0,04$, con un coeficiente de correlación de 0,999.

Una comparación de la Bilirrubina Total #1245 (y) con la Bilirrubina Total #1240 (x) se llevo a cabo manual en 167 muestras en un rango de 0,2 mg/dL a 21,6 mg/dL. La ecuación de correlación resultante fue $y = 0,99x - 0,01$, con un coeficiente de correlación de 0,999.

LINEARIDAD

La linealidad se extiende hasta 342 µmol/L (20,0 mg/dL). Las muestras que exceden la linealidad deberán diluirse con solución salina normal y repetirse. Multiplicar la concentración por el factor de dilución cuando se calcule lo desconocido.

SENSITIVIDAD

Basado en una resolución del instrumento Hitachi 704 de $A = 0,001$, el reactivo de la Bilirrubina Total tiene una sensibilidad de 0,07 mg/dL. La sensibilidad analítica es 0,1 mg/dL.

Basado en una resolución de un instrumento manual de $A = 0,001$, el reactivo de la Bilirrubina Total tiene una sensibilidad de 0,03 mg/dL. La sensibilidad analítica es 0,1 mg/dL.

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 1976, p. 1028-1044.
2. Annino, J.S., Clinical Chemistry Principles and Procedures, 2nd ed., Little, Brown and Company, Boston, 1960, p. 203.
3. Van den Bergh, A. and Mueller, P., Biochem. Z. 77, 1916, p. 90.
4. NCCLS: Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3), Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture (H4), Standard Procedures for Blood Specimen Processing (H18), National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, D.C., 1990, p. 3-61 - 3-72.
6. Henry, R., Cannon, D.C., and Winkelman, J.W., Clinical Chemistry Principles and Technics, 2nd ed., Harper and Row, Hagerstown, 1974, p. 1042.
7. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi 704 is a registered trademark of Roche Diagnostics. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc and its subsidiaries.

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue	Configuración
1245-250	2 x 125 mL
1245-500	2 x 250 mL
1245-200H	4 x 50 mL