

Determinación cuantitativa de bilirrubina directa IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina directa (conjugada) se combina con la sal de diazonio en presencia de un ácido sulfámico para formar el compuesto coloreado, azobilirrubina. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada. El aumento de la absorbancia a 546 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina directa.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina y existe en dos formas. La bilirrubina no conjugada se transporta al hígado, unida por la albúmina, donde se convierte en conjugada (directa) con el ácido glucurónico y se excreta. 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.

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

REACTIVOS

R 1	Ácido sulfámico	100 mM
R 2	2,4-DPD Ácido clorhídrico (HCl)	0,5 mM 0,3 M

PRECAUCIONES

R1: H314-Irritación o corrosión / R2: H290- Corrosivo para los metales.

H335 - Puede irritar las vías respiratorias. H314-Irritación o corrosión.

R2: contiene HCl and 2,4-DPD.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos 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.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 546 nm.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis¹. Proteger de la luz.

Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

VALORES DE REFERENCIA

Bilirrubina Directa 0- 0,2 mg/dL (0 -3,42 µmol/L)

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

INTERFERENCIAS

Las interferencias debidas a la hemólisis, lipemia y a. ascórbico se evaluaron para este método de bilirrubina directa en un analizador 240 Spintech. Se evaluaron dos concentraciones de la bilirrubina directa. No se observaron interferencias para la lipemia (Intralipid) hasta 350 mg /dL y ácido ascórbico hasta 40 mg/L.

La hemólisis produce una interferencia considerable, por lo que no se deben emplear muestras hemolizadas.

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

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	BILIRRUBINA D	Ref. Hombre Inf.	*
Nombre abreviado	BILD	Ref. Hombre Sup.	*
Modo	Dos puntos	Ref. Mujer Inf.	*
Long. ondas	546 nm	Ref. Mujer Sup.	*
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	2	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	0,03 mg/dL	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	9,00 mg/dL	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
MODO DUAL		MODO MONO	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	240 µL	Vol. Normal	** µL
Vol. repet.	240 µL	Vol. repet.	** µL
Muestra		Muestra	
Vol. normal	15.0 µL	Vol. normal	** µL
Vol. repet.	15.0 µL	Vol. repet	** µL
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. Normal	60 µL		
Vol. repet.	60 µL		
Predilución	No		
Incubación	-3.236 seg.	Incubación	**
Factor	**	Factor	**
Blanco reactivo	Si (0.000)	Blanco reactivo	SI (0.000)
Absorbancia inf.	-0.100 Abs Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs Abs
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs Abs	Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs Abs
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs Abs	Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs Abs

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,03 mg/dL hasta el límite de linealidad de 9 mg/dL.

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

Precisión:

Media (mg/dL)	Interserie (n= 40)		Intraserie (n= 80)	
	0,7458	2,444	0,7458	2,444
SD	0,05868	0,0550	0,0276	0,024
CV (%)	7,9	2,2	3,7	1,0

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,040 Abs.

Exactitud: Los resultados obtenidos usando reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x) con el analizador Spintech 240. Los resultados obtenidos con 53 muestras con valores de entre 0,06 a 9 mg/dL (1,02 a 153,9 µmol/L) fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9986.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0056 x - 0,1046

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

1. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307-328.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2: 481-491.
- Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical 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.

PRESENTACIÓN

Ref: SP1001047	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL