



## Bilirrubina Directa (Catalogo: BIDL02125)

### Uso:

Reactivo utilizado para la determinación cuantitativa "in vitro" de Bilirrubina Directa en muestras de suero humano.

### Significado Clínico:

Los glóbulos rojos, al final de su vida circulante, son destruidos en el sistema retículo endotelial, principalmente en el bazo. El grupo hemo resultante, una vez separado del hierro, se convierte en bilirrubina. Este proceso es responsable de aproximadamente un 80 % de los 3000 mg de bilirrubina que se forma al día. Otras fuentes de bilirrubinas sin la destrucción de mioglobulina y citocromos y el catabolismo de glóbulos rojos inmaduros en la médula ósea. Una vez formada, la bilirrubina es transportada al hígado unida a la albúmina se conoce como bilirrubina indirecta o no conjugada. En el hígado la bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico (mono y diglucuronidos) para formar la bilirrubina conjugada por acción de la enzima Uridil difosfato glucuronil transferasa. Esta bilirrubina conjugada o bilirrubina directa es excretada, vía estercobilinógeno por el intestino. La eliminación es casi completa y los niveles en plasma son normalmente despreciables. La bilirrubina total es la suma de las fracciones conjugada y no conjugada. La bilirrubina indirecta esta elevada en condiciones que causan obstrucción del conducto biliar, hepatitis, cirrosis, enfermedades hemolíticas y varias deficiencias enzimáticas heredadas. La bilirrubina indirecta esta elevada por causas pre-heredadas, tales como desordenes hemolíticos o enfermedades hepáticas que dan como resultado alteraciones en la entrada, transporte y conjugación del hígado. La valoración de la bilirrubina en el recién nacido, particularmente si es prematuro, es de gran importancia. Puesto que metabolismo hepático de la bilirrubina en tales casos es inmaduro, es común la ictericia en el recién nacido, debido al aumento de la bilirrubina no conjugada o indirecta. La bilirrubina no conjugada, si no esta unida a la albúmina, no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica mas fácilmente, aumentando el peligro de daño cerebral.

### Método:

La mayoría de los métodos actuales son basados en la reacción entre bilirrubina y soluciones de ácido sulfanílico diazotados. En solución acuosa solo la bilirrubina directa (conjugada) reaccionara de esta manera.

Este reactivo de bilirrubina directa usa el método de ácido diazo. La bilirrubina conjugada reacciona con el ácido sulfanílico para producir un ácido azobirrubina directa en la muestra, puede ser medida a 550 nm.

Para analizadores bicromaticos la lectura del blanco debe ser tomada a 660 nm.

### Composición del Reactivo:

Ingredientes Activos	Concentración
HCL	103 mM
Ácido Sulfanílico	9.8 mM
Nitrito de Sodio	145 mM

### Precauciones:

Este reactivo es solo para uso de diagnostico en Vitro. No pipetear con la boca. Evite contactos con la piel y ojos. Si ocurre algún derrame, lave las áreas afectadas con agua.

### Preparación del Reactivo:

Añadir el reactivo de Nitrito de Sodio al Reactivo de Bilirrubina directa en proporción de 1:100. Por ejemplo, a 10 mL de Reactivo de Bilirrubina directa, añadir 0.1 mL de reactivo de Nitrito de Sodio (esto es aproximadamente 3 gotas de nitrito por cada 10 mL de reactivo de Bilirrubina Directa).

### Almacenaje del Reactivo:

1. Almacenar el reactivo a temperatura de 2 a 25° C.
2. El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad.
3. El reactivo de trabajo es estable por lo menos 21 días almacenado de 2 a 8° C.

SE RECOMIENDA QUE LA TEMPERATURA DE CONSERVACION SEA DE 2 A 8° C PARA LUGARES CON TEMPERATURAS AMBIENTES MAYORES A 25° C.

### Deterioro del Reactivo:

No utilice el reactivo si presenta:

- Turbidez
- Absorbancia >0.1 AU a 550 nm
- No recupera los valores establecidos del control.

### Colección y Almacenaje de la muestra:

1. Debe de usarse muestras no hemolizadas
2. Las muestras deben ser protegidas de la luz brillante. Pueden ser almacenadas de 2 a 8° C, por 3 días.<sup>6</sup>

### Interferencia:

1. Hemoglobina: No existe interferencia significativa hasta 100 mg/dL.
2. Lipemia: No interferencia significativa hasta 202 mg/dL medida como triglicéridos
3. Ver Young.D.S.<sup>5</sup>

### Equipo adicional requerido pero no incluido:

1. Analizador de química clínica capaz de mantener temperatura de 37° C constante y medir absorbancia a 550 nm.
2. Agua desionizada y equipo relacionado, ejemplo Pipetas.
3. Consumibles específicos para el analizador ejem. Copas de muestras.
4. Material Control como los proporcionados por AccuLine.

### Procedimiento del Ensayo:

Estas instrucciones son para ser utilizadas como una guía general para la adaptación al instrumento automatizado seleccionado por el usuario. Es recomendable que un blanco de muestra sea ensayado con cada muestra. Un blanco de muestra puede ser obtenido usando el reactivo de Bilirrubina Directa como viene sin añadir el Nitrito de Sodio.

### Parámetros:

Bilirrubina Directa	
Temperatura de Incubación:	37° C
Longitud de Onda	550 nm
Tipo de ensayo:	Punto Final
Dirección:	Creciente
Proporción Muestra/reactivo	1:20
Volumen Muestra	50 µL
Volumen Reactivo	1000 µL
Tiempo incubación	10 minutos

### Notas del Procedimiento:

1. Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser alterados proporcionalmente para adaptarlos a los requisitos de varios instrumentos.
2. Muestras con valores mayores de 20 mg/dl, deben ser diluidas 1:1 con agua y el resultado multiplicado por 2

### Cálculos:

$\frac{\text{Abs. De la muestra} - \text{Abs. Del Blanco de muestra}}{\text{Abs. Del Calibrador} - \text{Abs. Del Blanco del calibrador}} \times \text{Valor Calibrador}$

(mg/dL) = Bilirrubina Directa.

Abs. Del Calibrador – Abs. Del Blanco del calibrador

### Ejemplo:

Absorbancia de la muestra	= 0.350
Absorbancia Blanco muestra	= 0.010
Absorbancia del Calibrador	= 0.250
Absorbancia Blanco Calibrador	= 0.010
Valor Calibrador	= 4.0 mg/dL

$$\frac{0.350 - 0.010}{0.250 - 0.010} \times 4 = 5.7 \text{ mg/dL} \times 17.10 = \text{mmol/L}$$

### Calibración:

Se requiere calibración. Este ensayo requiere de uso de un calibrador o estándar apropiado con valores conocidos de Bilirrubina Directa, tal como el Calibrador de AccuLine.

### Control de Calidad:

La integridad de la reacción debe ser valorada con el uso de dos niveles de control con valores de Bilirrubina Directa conocidos.

### Limitaciones:

Algunas muestras con lipemia pueden requerir un blanco de solución salina para obtener resultados precisos.

### Valores esperados:<sup>6</sup>

Adultos y niños mayores de 1 mes 0.0 – 0.2 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.<sup>7</sup>

### Desempeño:

#### Linealidad:

Cuando es evaluado como recomendado en ensayo es lineal hasta 20 mg/dL

Comparación del Método:

Los siguientes resultados fueron obtenidos mediante estudios realizados entre este procedimiento y uno similar:

Coefficiente de correlación: 0.999  
Pendiente 0.928  
Intercepción: 0.06 mg/dL

Precisión:

Entre Corridas	Nivel 1	Nivel 2
Promedio (mg/dL)	0.19	4.05
S. D (mg/dL)	0.02	0.07
C.V. (%)	11.8	1.7

Entre Series:

Entre Series:	Nivel 1	Nivel 2
Promedio (mg/dL)	0.19	4.05
S. D (mg/dL)	0.03	0.19
C.V. (%)	16.2	4.7

Referencias:

1. Zilva JF, Pannall PR. "Liver Disease and Gall Stones" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke 1979; Champ XIII; 286-8
2. Malloy HT, Evelyn KA, J Biol Chem 1937: 119-481-90.
3. Jendrassik L, Grof B. Biochem Zeit 1938: 297;81-9
4. Pearlman FC, Lee RT. Clin Chem 1974;20:447-53
5. Young SD, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. AACC Press 1990
6. Tietz N. Textbook of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Edition Burtis CS and Ashwood ER (Eds) W.B. Saunders, 1995
7. Watchel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine, 1995;26:593-7.

Fabricado por: J. Diagnostics

Importado acondicionado y distribuido en México por:

Diagno Lab S.A. de C.V.  
Antonio Dueñez Orozco No. 180  
Zona Industrial  
Torreón Coahuila  
C.P. 27019

Asesoría y soporte técnico  
Lada sin costo: 01 800 508 21 50

Visite nuestra página de Internet  
[www.diagnolab.com.mx](http://www.diagnolab.com.mx)