



Bilirrubina Total (Catalogo: BITL02125)

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad: Hasta caducidad a 2 – 8° C
Intervalo de linealidad: Cuando es evaluado como se recomienda el ensayo es lineal hasta 20 mg/ dL.
Tipo de muestra: suero
Método: Punto final enzimático
Preparación del reactivo: suministrado listo para su uso
ACCULINE PLUS™
Reactivo líquido estable de bilirrubina total

Uso:

Reactivo utilizado para la determinación cuantitativa "in vitro" de bilirrubina total en muestras de suero humano.

Significado clínico:

Bilirrubina total en suero es elevada en cirrosis, hepatitis y en ictericia obstructiva y hemolítica. La diferencia entre bilirrubina directa e indirecta es importante en la determinación de causas que especifican un aumento en la bilirrubina total.

Método:

Los métodos mas comunes para la determinación clínica de bilirrubina es el acoplamiento de la bilirrubina en suero con ácido diazotado sulfanilico (ácido p-diazo benzeno sulfónico) para producir colorante azobilirrubina. La reacción fue descrita por Ehrlich ² en 1884 y fue usada por van de bergh y snapper ³ para demostrar la presencia de la bilirrubina en suero normal. Van den Bergh ⁴ observo mas adelante que habian dos tipos de bilirrubinas las cuales podian ser distinguidas usando una reacción diazo. La Bilirrubina directa reacciona con diazo sin la presencia de alcohol (acelerador). Esta es la bilirrubina la cual ha sido conjugada con ácido glucoronico por el hígado y entonces es soluble en agua. La forma indirecta de bilirrubina no es conjugable y existe en suero sujeta a albumina. Este complejo bilirrubina-albúmina no es soluble en agua, y por lo tanto requiere de un acelerador o un agente solubilizante, para remover la bilirrubina de la albúmina para que así reaccione con el ácido sulfanilico diazotizado. La bilirrubina total en suero es la suma de las formas directa e indirecta.

Muchas sustancias han sido utilizadas como aceleradores para la reacción de bilirrubina conjugada con reactivo diazo. Malloy y Evelyn⁵ primero introdujeron metanol en 1937. Jendrassik y Grof⁶ introdujeron el uso de la cafeína y benzoato de sodio en 1938.

Subsecuentemente, ha habido modificaciones a estos métodos. ^{7 8 9} El método de bilirrubina total utilizado esta basado en una modificación del método de Peralmen y Lee ⁶ en el cual es usado un surfactante como diluyente. Nitrito de sodio es añadido al ácido sulfanilico para formar ácido sulfanilico diazotado para producir azobilirrubina la cual absorbe fuertemente a 550nm. La absorbancia medida a 550nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina total en la muestra.

Composición del reactivo:

Ingredientes activos	Concentración
Ácido sulfanilico	4.9 mM
HCl	104mM
Nitrito de sodio	145mM

Precauciones:

- 1.- Este reactivo es solo para uso de diagnostico in vitro.
- 2.- Este reactivo es toxico y corrosivo. No pipetear con la boca. Evite contacto con la piel y ojos. Si algún derrame ocurre, lave las ares afectadas con agua abundante.

Preparación de reactivo:

Añadir el reactivo de nitrito de sodio el reactivo de bilirrubina total en proporción de 1:100. Por ejemplo, a 10 mL de reactivo de bilirrubina total. Añadir 0.1 ml de nitrito de sodio (esto es aproximadamente 3 gotas de nitrito por cada 10 mL de bilirrubina total)

Almacenaje del reactivo

- 1.- Almacenar el reactivo a temperatura de 2 a 25° C.
Nota: cuando la temperatura ambiente rebasa los 25° C.
Se recomienda conservar el reactivo en refrigeración (2 a 8° C)
- 2.- El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad marcada en la etiqueta.
- 3.- El reactivo de trabajo es estable por lo menos 21 días almacenado a una temperatura de 3 a 8° C.
- 4.- No recupera los reactivos.
- 5.- Evite la exposición del reactivo a luz directa.

Deterioro del reactivo

No utilice el reactivo si ocurre una de las siguientes condiciones:

- 1.- Turbidez
- 2.- Absorbancia >0.1AU a 550nm
- 3.- No recupera los valores establecidos de los controles el reactivo de trabajo normalmente desarrolla un color amarillo/naranja claro.

Colección y almacenaje de muestra

- 1.- Debe usarse muestras no hemolizadas
- 2.- Las muestras deben ser analizadas en las dos primeras horas desde la colección si son mantenidas a temperatura ambiente y entre 12 horas si es mantenida refrigerada (2-8° C) y protegidas de la luz
- 3.- Bilirrubina en suero es estable por tres meses cuando se almacenan congeladas (-20° C) y protegidas de la luz ¹¹

4.- La luz directa puede causar una reducción de bilirrubina de hasta 50% en una hora. ¹

Interferencia

- 1.-Algunas drogas y sustancias afectan los resultados de bilirrubina. Ver Young. et al. ¹²
- 2.-No existe interferencia significativa de hemoglobina hasta, 400 mg/dl
- 3.-No existe interferencia significativa de lipemia, medida como triglicéridos hasta 202 mg/dl

Equipo adicional requerido pero no incluido

- 1.- Analizador de química clínica capaz de mantener temperatura constante de 37° C y medir absorbancia a550nm.
- 2.-Agua desionizada y equipo relacionado, ejemplo: pipetas
- 3.- Consumibles especificos para el analizador ejemplo: copas de muestra
- 4.- Material de control como el proporcionado

Procedimiento del ensayo

Estas instrucciones son para ser utilizadas como una guía general para la adaptación al instrumento automatizado seleccionado por el usuario.

Parámetros:

Bilirrubina total	
Temperatura de incubación:	37° C
Longitud de onda	550nm
Tipo de ensayo:	Punto Final
Dirección	Creciente
Proporción: Muestra/ Reactivo	1:20
Volumen de muestra	50mL
Volumen de reactivo	1.0 mL
Tiempo de 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.- Bilirrubina es exactamente sensible a la luz, todas las muestras deben ser almacenadas y protegidas de fuentes de luz.

Cálculos:

$\frac{\text{Abs. de la muestra}}{\text{abs. del calibrador}} \times \text{Valor del calibrador (mg/dl)} = \text{bilirrubina total}$

Ejemplo:

Absorbancia de la muestra	=0.350
Absorbancia del calor	=0.240
Valor del calibrador	=5.0mg/dl

$$a. \quad 0.240 \times 5 = 7.1 \text{ mg / dL bilirrubina total}$$

0.240

Calibración:

Se requiere calibración. Este ensayo requiere el uso e un calibrador aprobado con valores conocidos de bilirrubina total. Como el calibrador múltiple.

Control de calidad:

La integridad de la reacción debe ser valorada con el uso de dos controles que contenga con dos niveles de bilirrubina total.

Limitaciones:

Muestras con valores mayores de 20 mg / dL deben ser diluidas 1:1 con solución salina y ensayada nuevamente, el resultado final debe ser multiplicado por dos.

Valores Esperados: 1

0.2-1.0 mg /dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Desempeño:

Linealidad:

Cuando es evaluado como se recomienda el ensayo es lineal hasta 20 mg / dl.

Comparación de métodos:

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

Coefficiente de correlación	0.999
Pendiente	0.975
Intersección	0.017 mg /dL

Precisión:

Entre corridas	Nivel 1	Nivel 2
Promedio (mg / dL)	0.55	8.06
S.D. (mg / dL)	0.04	0.12
C.V. (%)	6.4	1.5
Entre series:		
Promedio (mg /dl)	0.55	8.06
S.D. (mg / dl)	0.04	0.16
C.V. (%)	6.8	2.0

Referencias:

- 1.- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1037 (1982)
- 2.- Ehrlich, P., Zeitschr, Sur Anal. Chemie 23:275 (1884)
- 3.- Van den Bergh, A.A.H., Snapper, J., Dtsch Arch Klin Med 110:540 (1913).
- 4.- Van den Bergh, A.A.H., Muller, P., Biochem Z 77:90 (1916)
- 5.- Malloy, H.T., Evelyn, K.A., j. Biol. Chem. 119:481 (1937)
- 6.- Jendrassik, I., Grof, P., Biochem. Zeitschr. 297:18 (1983)
- 7.- Michaelsson, M., Scand. J. Clin. Lab. Invest. (Suppl. 49) 13:1 (1961).
- 8.- Nosslin, B., Scand. J. Clin. Lab. Invest.. (Suppl. 49) 12:1 (1960)
- 9.- Gambino, S.R., Standard Methods of Clinical Chemistry 5:55 (1965).
- 10.- Pearlman FC, Lee RT. Clin. Chem 1974; 20:447-53
- 11.-Martinek, R.G. Clin. Chim. Acta 13:161 (1966)
- 12.- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975)

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