

BILIRRUBINA (BIL)

MANUAL
RX MONZA

USO PREVISTO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de bilirrubina total y directa en suero y plasma. Este producto es apto para su uso manual y en el analizador RX **monza**.

N.º cat.

BR 411	R1. Ácido sulfanílico	1 x 50 ml
225 ml	R2. Nitrito	1 x 10 ml
	R3. Cafeína	1 x 100 ml
	R4. Tartrato	1 x 100 ml
GTIN:	05055273200850	

BR 412	R1. Ácido sulfanílico	1 x 250 ml
2 x 625 ml	R2. Nitrito	1 x 30 ml
	R3. Cafeína	2 x 250 ml
	R4. Tartrato	2 x 250 ml
GTIN:	05055273200867	

IMPORTANCIA CLÍNICA

La bilirrubina se forma por la descomposición de hemoglobina en el bazo, el hígado y la médula ósea. En el hígado, la bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico para formar un compuesto soluble. Esta bilirrubina conjugada pasa por el conducto biliar y se excreta en el tracto gastrointestinal. En la circulación también hay presente una forma de albúmina no conjugada. Es insoluble y normalmente no pasa por los riñones a la orina.

El aumento de la concentración de bilirrubina en el suero o los tejidos se denomina ictericia. La ictericia se produce en enfermedades infecciosas o tóxicas del hígado, por ejemplo, hepatitis B u obstrucción del conducto biliar, y en bebés con incompatibilidad Rh.

Determinar qué forma de bilirrubina está elevada aporta información útil.

Los niveles altos de bilirrubina directa o conjugada indican que la bilis no se está excretando correctamente, lo que podría deberse a una obstrucción del conducto biliar o la vesícula biliar. La bilirrubina indirecta o no conjugada puede determinarse también restando el nivel de bilirrubina directa del resultado total de bilirrubina. Los niveles altos de bilirrubina no conjugada indican que se está destruyendo demasiada hemoglobina o que el hígado no está tratando activamente la hemoglobina que recibe.

MÉTODO COLORIMÉTRICO

PRINCIPIO⁽¹⁾

Método colorimétrico basado en el método descrito por Jendrassik y Grof (1938). La bilirrubina directa (conjugada) reacciona con el ácido sulfanílico diazotado en medio alcalino para formar un complejo de color azul. La bilirrubina total se determina por la presencia de cafeína, que libera bilirrubina unida a albúmina, por la reacción con el ácido sulfanílico diazotado.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras preferidas son suero, plasma heparinizado o plasma con EDTA. Deben utilizarse muestras frescas y mantenerlas protegidas de la luz directa. Evitar la hemólisis, ya que interfiere con la prueba.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

Contenido	Concentración inicial de las soluciones
R1. Ácido sulfanílico	29 mmol/l
Ácido clorhídrico	0,17 N
R2. Nitrito de sodio	38,5 mmol/l
R3. Cafeína	0,26 mol/l
Benzoato de sodio	0,52 mol/l
R4. Tartrato	0,93 mol/l
Hidróxido de sodio	1,9 N

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Solo para uso diagnóstico *in vitro*. No pipetear con la boca. Tomar las precauciones normales necesarias para manipular reactivos de laboratorio.

El reactivo R4 contiene hidróxido de sodio, que es corrosivo.

Las fichas de seguridad y salud están disponibles bajo petición.

Los reactivos serán utilizados únicamente por personal de laboratorio cualificado para la finalidad prevista, en las condiciones de laboratorio adecuadas.

ESTABILIDAD Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para usar. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se almacena a una temperatura de +15 a +25 °C.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Ácido sulfanílico
Nitrito
Cafeína
Tartrato

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Dispositivo de pipeteado apto para la administración de 50 µl, 200 µl, 1 ml y 2 ml.
Temporizador y baño de agua o bloque de calefacción para mantener la temperatura entre 20 y 25 °C.
Un espectrofotómetro con capacidad de longitud de onda de 530 a 560 nm.
Solución de NaCl al 0,9 %.
Control de bilirrubina elevada de Randox (n.º cat. BE 454).
Multisuero analizado de Randox, nivel 2 (n.º cat. HN 1530) y Nivel 3 (n.º cat. HE 1532).
Suero de calibración de Randox, nivel 3 (n.º cat. CAL 2351).

T BIL

PROCEDIMIENTO

Realizar una nueva calibración de ganancia en modo de cubeta, utilizando agua bidestilada nueva. Seleccionar TBIL en la pantalla Run Test (Procesar prueba) y procesar un blanco de agua tal y como se indica.

Pipetear en una cubeta:

	Blanco de muestra	Muestra
Reactivo 1	200 µl	200 µl
Reactivo 2	-	1 gota (50 µl)
Reactivo 3	1000 µl	1000 µl
Muestra	200 µl	200 µl

Mezclar e incubar durante 10 min a 20-25 °C.

Reactivo 4	1000 µl	1000 µl
------------	---------	---------

Mezclar e incubar durante otros 5 a 30 minutos a 25 °C. Insertar la cubeta en el soporte de celda de flujo del analizador RX Monza y pulsar Read (Leer).

CALIBRACIÓN DE RX MONZA

Se recomienda realizar a diario utilizando suero de calibración de nivel 3 de Randox.

PARA USO MANUAL

Longitud de onda	Bilirrubina total: 578 nm (560600 nm)
Cubeta:	Trayectoria de la luz 1 cm
Temperatura de reacción:	20-25 °C
Medición:	contra blanco de muestra

Mezclar R1, R2, R3 y la muestra, y dejar reposar durante 10 minutos a 20-25 °C. A continuación, añadir R4, mezclar y dejar reposar durante 5 a 30 min a 20-25 °C. Después, leer la absorbencia de la muestra contra la muestra de blanco (A_{BT}).

CÁLCULO MANUAL

Bilirrubina total (µmol/l)	=	185 x A_{BT} (578 nm)
Bilirrubina total (mg/dl)	=	10,8 x A_{BT} (578 nm)

D BIL

PROCEDIMIENTO

Realizar una nueva calibración de ganancia en modo de cubeta, utilizando agua bidestilada nueva. Seleccionar DBIL en la pantalla Run Test (Procesar prueba) y procesar un blanco de agua tal y como se indica.

Pipetear en una cubeta:

	Blanco de muestra	Muestra
Reactivo 1	200 µl	200 µl
Reactivo 2	-	1 gota (50 µl)
NaCl al 0,9 %	2000 µl	2000 µl
Muestra	200 µl	200 µl

Mezclar e incubar durante 10 min a 20-25 °C. Insertar la cubeta en el soporte de celda de flujo del analizador RX Monza y pulsar Read (Leer).

CALIBRACIÓN DE RX MONZA

Se recomienda realizar a diario utilizando suero de calibración de nivel 3 de Randox.

PARA USO MANUAL

Longitud de onda	Bilirrubina directa: 546 nm (530560 nm)
Cubeta:	Trayectoria de la luz 1 cm
Temperatura de reacción:	20-25 °C
Medición:	contra blanco de muestra

Mezclar R1, R2, NaCl 0,9 % y la muestra, y dejar reposar durante 10 minutos a 20-25 °C. Leer la absorbencia de la muestra contra el blanco de muestra (A_{BD}).

CÁLCULO MANUAL

Bilirrubina directa (µmol/l)	=	246 x A_{BD} (546 nm)
Bilirrubina directa (mg/dl)	=	14,4 x A_{BD} (546 nm)

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar multisuero analizado de Randox de nivel 2 y nivel 3 o el control de bilirrubina elevada de Randox para el control de calidad diario. Deben analizarse dos niveles de controles al menos una vez al día. Los valores obtenidos deben estar dentro del intervalo especificado. Si estos valores están fuera del intervalo y la repetición excluye el error, deben realizarse los siguientes pasos:

1. Comprobar la configuración de los instrumentos y la fuente de luz.
2. Comprobar la limpieza de todos los equipos en uso.
3. Comprobar el agua; los contaminantes, tales como el crecimiento bacteriano, pueden producir resultados inexactos.
4. Comprobar la temperatura de reacción.
5. Comprobar la fecha de caducidad del kit y del contenido.
6. Ponerse en contacto con el servicio técnico de Randox Laboratories, Irlanda del Norte +44 (0) 28 9445 1070.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere con la prueba. Deben utilizarse muestras frescas y mantenerlas protegidas de la luz directa.

VALORES NORMALES EN SUERO⁽²⁾

Bilirrubina total:	hasta 17 µmol/l hasta 1 mg/dl
Bilirrubina directa:	hasta 4,3 µmol/l hasta 0,25 mg/dl

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia que refleje la edad, el sexo, la dieta y la ubicación geográfica de la población.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL RENDIMIENTO

TBIL

Los siguientes datos de rendimiento se obtuvieron en un analizador de RX **monza** a una temperatura de 25 °C.

LINEALIDAD

El método es lineal hasta 560 µmol/l (32,8 mg/l). Si la concentración supera este valor, diluir la muestra en una proporción 1:4 con NaCl al 0,9 % (p/v) y volver a analizar. Multiplicar el resultado por 5.

SENSIBILIDAD

Se ha determinado que el nivel mínimo detectable es de 1,83 µmol/l (0,107 mg/dl).

PRECISIÓN

Intraensayo

	Nivel 2	Nivel 3
Media (mg/dl)	1,94	5,14
SD	0,023	0,012
CV (%)	1,18	0,23
n	20	20

Interensayo

	Nivel 1	Nivel 2
Media (mg/dl)	1,94	5,14
SD	0,059	0,194
CV (%)	3,02	3,77
n	20	20

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

El método Randox (Y) se comparó con el método (X) disponible en el mercado. Se analizaron 41 muestras de pacientes con valores en el intervalo de 0,23 a 23,9 mg/dl. El análisis de regresión lineal de los datos dio la siguiente ecuación,

$$Y = 1,014X + 0,02 \text{ con un coeficiente de correlación } r = 0,9995$$

DBIL

Los siguientes datos de rendimiento se obtuvieron en un analizador de RX Monza a una temperatura de 25 °C.

LINEALIDAD

El método es lineal hasta 608 $\mu\text{mol/l}$ (35,6 mg/l). Si la concentración supera este valor, diluir la muestra en una proporción 1:4 con NaCl al 0,9 % (p/v) y volver a analizar. Multiplicar el resultado por 5.

SENSIBILIDAD

Se ha determinado que el nivel mínimo detectable es de 0,872 $\mu\text{mol/l}$ (0,051 mg/dl)

PRECISIÓN

Intraensayo

	Nivel 2	Nivel 3
Media (mg/dl)	1,00	1,76
SD	0,029	0,085
CV (%)	2,94	4,82
n	20	20

Interensayo

	Nivel 1	Nivel 2
Media (mg/dl)	1,00	1,76
SD	0,044	0,125
CV (%)	4,41	7,38
n	20	20

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

El método Randox (Y) se comparó con el método (X) disponible en el mercado. Se analizaron 49 muestras de pacientes con valores en el intervalo de 0,11 a 4,6 mg/dl. El análisis de regresión lineal de los datos dio la siguiente ecuación,

$$Y = 1,049X + 0,03 \text{ con un coeficiente de correlación } r = 0,9910$$

REFERENCIAS

- Jendrassik, L. and Grof, P., Biochem. Z. 1938; **297**: 81.
- Sherlock, S. (1951) P. 204 in Liver Disease, Churchill, London.

Revisado el 26 de Abril de 2016 bi
Rev. 002

ESTA PÁGINA SE HA DEJADO EN BLANCO INTENCIONADAMENTE