

BILIRRUBINA TOTAL (DMSO)

Ref.:BTC-021

Determinación cuantitativa de bilirrubina total
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8°C

2 x 125 + 1 x 10 mL

TOTAL BILIRUBIN



PRINCIPIO DEL METODO

La bilirrubina reacciona con una sal de diazonio midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, solo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) y urea para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada^{1,4}.

SIGNIFICADO CLINICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina, es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La concentración de bilirrubina se utiliza en el diagnóstico y tratamiento de patologías hepáticas, hemolíticas, hematológicas y desordenes metabólicos, incluyendo hepatitis y colestasis hepática^{5,4}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R1: Acido sulfanílico 30 mmol/L, Acido clorhídrico 50 mmol/L, Dimetilsulfoxido (DMSO) 7 mol/L.

R2: Sodio nitrito 29 mmol/L.

Opcional: **Bilirrubin S.** Patrón de Bilirrubina 20 mg/dL.

PRECAUCIONES

Ácido clorhídrico: Irritante (Xi). R36/37/38: Irrita los ojos la piel y las vías respiratorias. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

PREPARACION

Los reactivos R1 y R2 están listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

Indicadores de deterioro: presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 550±20 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.

PROCEDIMIENTO (Nota 1)

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda:550±20 nm.
Temperatura.....15-25°C
- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Bil. T.
R1 (mL)	1,05	1,0
R2 (µL)		50
Agua destilada/Muestra/S (µL)	100	100

- Mezclar e incubar exactamente 5 minutos a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente a agua destilada.

CALCULOS

- Con Patrón:

$$\frac{A \text{ Muestra} - A \text{ Bl. Muestra}}{A \text{ Patrón} - A \text{ Bl. Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL}$$

- Con Factor:

$$(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Bl. Muestra} \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirrubina T}$$

$$\text{*Factor: } \frac{\text{Concentración del Patrón}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco Patrón}} ; \text{Factor teórico} = 19,1$$

*Factor: para una cubeta de un paso de luz de 1 cm.

Factor de conversión: mg/dL x 17,1 = µmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados, de nivel normal y patológico (Control N ref. CTN-102 y Control P ref. CTP-103).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Bilirrubina Total Hasta 1,10 mg/dL ≅ Hasta 18,81 µmol/L

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

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Entre el límite de detección 0,02 y el límite de linealidad 20 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 (n=20):

Intraserie	Interserie
Media (mg/L)	1,12 5,30 1,15 5,13
CV (%)	2,2 2,3 4,8 2,4

Exactitud: Los reactivos BSM no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los resultados detallados están disponibles bajo petición.

Interferencias: la hemolisis provoca disminución de los valores de bilirrubina¹⁻³. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación del bilirrubina^{3,2}.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos (Calibrador Bioquímica ref. CAL-101).
- BSM dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Cim Acta 1966; 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.