

COD 12504 5 x 50 mL
Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico

USO PREVISTO

Reactivo para la medición de la concentración de bilirrubina directa en suero o plasma humano. Los valores obtenidos son útiles como ayuda en el diagnóstico y control de la evolución de la ictericia.

Este reactivo debe ser utilizado en los analizadores A25 y A15 de BioSystems o en otro analizador de prestaciones similares.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina es un producto de desecho derivado del grupo hemo de la hemoglobina de los eritrocitos dañados o senescentes, que son destruidos en las células reticuloendoteliales. Una vez producida, la bilirrubina se transporta al hígado en asociación con la albúmina. La bilirrubina en el hepatocito se conjuga con el ácido glucurónico y se excreta en la bilis. Existen una serie de enfermedades heredadas o adquiridas que afectan a la producción, captación, metabolismo y excreción de bilirrubina, resultando en una hiperbilirrubinemia^{1,2}.

Se observa hiperbilirrubinemia no conjugada en recién nacidos (ictericia fisiológica), en un aumento de la destrucción de eritrocitos (anemia hemolítica, hematoma extenso), en eritropoyesis defectuosa así como en algunas enfermedades genéticas poco frecuentes (síndrome de Gilbert, síndrome de Crigler-Najjar).

La hiperbilirrubinemia conjugada se asocia a una disminución en la excreción de bilis debida a enfermedades hepáticas (hepatitis o cirrosis) o bien a una colestasis intra o extrahepática.

La ictericia es una manifestación clínica de la hiperbilirrubinemia, que consiste en una deposición de los pigmentos biliares en la piel, originando coloración amarillenta de la piel y mucosas.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La bilirrubina directa en la muestra reacciona con la sal de 3,5-diclorofenildiazonio formando un complejo coloreado que puede ser medido mediante espectrofotometría a 535 nm³. La cetrimida solubiliza la bilirrubina indirecta permitiendo su reacción junto con la fracción directa^{4,5}. Los términos "directa" y "total" se refieren a las características de reacción en presencia o ausencia de solubilizantes (aceleradores). La bilirrubina "directa" e "indirecta" equivale sólo de forma aproximada a las fracciones conjugada y no conjugada.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

A. Reactivo: 5 x 40 mL. Ácido fosfórico 90 mmol/L, HEDTA 4,5 mmol/L, cloruro de sodio 50 mmol/L, pH 1,5.

PELIGRO: H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303+P361+P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

B. Reactivo: 5 x 10 mL. 3,5-diclorofenildiazonio 1,5 mmol/L.

PELIGRO: H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303+P361+P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más advertencias y precauciones, ver la ficha de datos de seguridad del producto (SDS).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C.

Los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Estabilidad a bordo: Los reactivos abiertos y conservados en el compartimento refrigerado del analizador son estables 2 meses.

Indicaciones de deterioro: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros del Ensayo".

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS (NO SUMINISTRADOS)

Calibrador de Bioquímica (BioSystems cod. 18011) o Calibrador de Bioquímica Humano (BioSystems cod. 18044).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Ejercer las precauciones habituales requeridas para manipular todos los reactivos de laboratorio. Las fichas de seguridad están disponibles para el usuario bajo petición. La eliminación de todos los residuos debe ser conforme a las normativas locales.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para su uso.

MUESTRAS

Suero y plasma recogidos mediante procedimientos estándar. Utilizar heparina y EDTA como anticoagulantes.

La concentración de bilirrubina en suero y plasma es estable 2 días a 20-25°C, 7 días a 4-8°C y 6 meses a -20°C siempre que se proteja de la luz⁶.

CALIBRACIÓN

Debe realizarse un blanco de reactivo cada día y calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica niveles I (cod. 18005, 18009 y 18042) y II (cod. 18007, 18010 y 18043), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos⁷:

Directa:	Hasta 0,4 mg/dL = 6,8 µmol/L
----------	------------------------------

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Las prestaciones metrológicas que se describen a continuación, han sido obtenidas utilizando un analizador A25 y siguiendo las guías del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Los resultados son similares a los del A15.

- Límite de detección: 0,07 mg/dL = 1,15 µmol/L. Límite de cuantificación: 0,37 mg/dL = 6,32 µmol/L.
- Límite de linealidad: 15 mg/dL = 257 µmol/L.
- Precisión:

Concentración media	Repetibilidad (CV)	Imprecisión total (CV)
0,492 mg/dL = 8,42 µmol/L	5,8 %	8,4 %
1,09 mg/dL = 18,6 µmol/L	2,8 %	6,3 %
2,01 mg/dL = 34,4 µmol/L	2,1 %	5,4 %

- Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Interferencias: la hemólisis (hemoglobina 25 mg/dL) y la lipemia (triglicéridos 1300 mg/dL) interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁸.
- Ocasionalmente, en aquellas muestras en las que la concentración de bilirrubina directa y total son muy similares, pueden obtenerse algunos valores más altos para la bilirrubina directa que para la bilirrubina total.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 2001.
3. Thaler M, Luppa PB and Schliebusch H. Bilirubin measurement – an updated survey. J Lab Med 2008; 32:1-9.
4. Zoppi F, Peracino A, Fenili D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giom It Chim Ci 1976; 1:343-359.
5. Pearlmann FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
6. World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.
7. Larson DL. Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques Elsevier, 2017:358.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 2000.

PARÁMETROS DE LA PRUEBA

R1: Utilizar el Reactivo A

R2: Utilizar el Reactivo B

	A25	A15
GENERAL		
Nombre	BILIRUBIN DIRECT	BILIRUBIN DIRECT
Tipo muestra	suero / plasma	suero / plasma
Modo de análisis	diferencial bireactivo	diferencial bireactivo
Unidades	mg/dL	mg/dL
Test de turbidimetría	no	no
Decimales	2	2
Tipo de reacción	creciente	creciente
PROCEDIMIENTO		
Modo de lectura	bicromático	bicromático
Filtro principal	535	535
Filtro de referencia	670	670
Muestra	14	14
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Lavado	1,2	1,2
Lectura 1 (ciclo)	6	3
Lectura 2 (ciclo)	10	7
Reactivo 2 (ciclo)	7	5
Factor predilución	-	-
CALIBRACIÓN Y BLANCO		
Tipo de calibración	múltiple	múltiple
Número de calibradores	1	1
Curva de calibración	-	-
OPCIONES		
Límite absorbancia blanco	0,04	0,04
Límite blanco cinético	-	-
Límite linealidad	15	15
Sustrato consumido	-	-