



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

BILIRRUBINA DIRECTA

Método DCA

Reactivo para la determinación cuantitativa de la bilirrubina directa en plasma o suero humano.

REF	97553 R1	2 x 200 mL	Bilirrubina directa
	R2	1 x 100 mL	Solución Nitrito

CODIGO CNQ : BX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1)

Al menos coexisten en el suero cuatro clases de bilirrubina: la **bilirrubina directa (BD)** corresponde a la bilirrubina llamada mono y diconjugada (β y γ Bilirrubina) así como la fracción δ que está ligada fuertemente a la albúmina; la bilirrubina α , no conjugada o bilirrubina indirecta, que se transporta por la albúmina. La **bilirrubina total (BT)** es la suma de estas diferentes formas.

Se distingue la ictericia donde predomina la bilirrubina indirecta (ictericia hemolítica, enfermedad de Biermer, Talasemia...etc), la ictericia donde predomina la bilirrubina directa (obstrucción de la vía biliar intra o extrahepática, hepatitis viral...etc). Y finalmente, la ictericia donde las dos formas de bilirrubina está presentes (cirrosis, enfermedad de Dubin-Johnson).

PRINCIPIO (4) (5)

Método basado sobre el principio de Rand y Di Pasqua automatizado por Golub y al.

La reacción entre la BD y la dicloroanilina diazotada en presencia de un detergente o de un solvente conduce a un compuesto, la azobilirrubina en el cual la absorbencia, directamente proporcional a la concentración en BD en la muestra, es medida a 550 nm (540-560).

REACTIVOS

Vial R1 BILIRRUBINA DIRECTA

NaCl	7,2 g/L
Acido sulfanílico	72 mmol/L
EDTA	756 μ mol/L

Vial R2 SOLUCION NITRITO

2-4 Dicloroanilina	125 μ mol/L
Nitrito de Sodio	125 μ mol/L

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados a personal cualificado, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.

Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El reactivo R1 esta listo para el uso.

Preparación del reactivo de trabajo: Mezclar 4 volúmenes de R1 con 1 volumen de R2.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar protegido de la luz, en el vial de origen bien cerrado a 2-8°C.

- En ausencia de contaminación, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si son utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas.
- Después de su reconstitución, el reactivo de trabajo es estable en ausencia de contaminación 5 días a 18-25°C y 3 semanas a 2-8°C.
- No utilizar los reactivos si están turbios o si el reactivo de trabajo tiene una absorbencia > 0.100 a 550 nm.
- No utilizar el reactivo de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2) (6)

Suero o plasma (no hemolizados).

La bilirrubina es fotolábil. Almacenar el espécimen protegido de la luz.

- Estabilidad en la muestra: 4 a 7 días a 2-8°C.
2 días a temperatura ambiente.

Muestras pediátricas o ictericas: ver § **MODO OPERATORIO**.

INTERFERENCIAS (3) (4)

La reacción de formación de la diazobilirrubina es sensible a las variaciones de temperatura y debe ser mantenida a temperatura constante.

Acido ascórbico: Ninguna interferencia hasta 25 mg/dL.
Glucosa: Ninguna interferencia hasta 1200 mg/dL.
Triglicéridos: No hay interferencia significativa hasta 3,9 μ mol/L.
Hemoglobina: No hay interferencia significativa hasta 250 μ mol/L.
Más allá, la hemólisis conlleva una subevaluación de los resultados.
Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros o hemolizados de control normales y patológicos.

CALIBRACION (7)

- Utilizar el factor experimental indicado en el § **CALCULO** (Procedimiento n°1 y n°2).
- O BIOLABO Multicalibrator REF 95015 trazable sobre SRM 916a (Procedimiento n°1 únicamente)
- O cualquier calibrador trazable sobre un método o un material de referencia (Procedimiento n°1 únicamente).

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote del reactivo.
 2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
- Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de suero de control recién reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD CODIGO CNQ : BX

- BIOLABO EXATROL-N Tasa I [REF] 95010.
 - BIOLABO EXATROL-P Tasa II [REF] 95011.
 - BIOLABO CONTROL PEDIATRICO [REF] 95403
 - O cualquier otro suero de control titulado para este método y para el modo de empleo seleccionado.
 - Programa externo de control de calidad.
- Se recomienda controlar en los siguientes casos:
- Al menos un control por rutina.
 - Al menos un control cada 24 horas.
 - Cambio de vial del reactivo.
 - Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar de nuevo utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

Bilirrubina directa	mg/dL	[µmol/L]
Adulto (y niño > 5 días)	< 0.2	[< 3.4]

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores de referencia para la población estimada.

LIMITE DE LINEALIDAD

Modo de empleo n°1: hasta 20 mg/dL (342 µmol/L).

Más allá, **no diluir la muestra**: aplicar el modo de empleo n°2.

Modo de empleo n°2: hasta 100 mg/dL (1710 µmol/L)

Muestra pediátrica: aplicar el modo de empleo n°2

PRESTACIONES (PROCEDIMIENTO N°1)

Intra-serie N = 20	Tasa media	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa media	Tasa elevada
Media mg/dL	1.13	2.54	Media mg/dL	0.74	1.75
S.D. mg/dL :	0.019	0.029	S.D. mg/dL :	0.017	0.032
C.V. % :	1.68	1.15	C.V. % :	2.3	1.84

Límite de detección: aproximadamente 0.1 mg/dL

Sensibilidad para 1 mg/dL: 70 mAbs a 550 nm

Comparación con reactivo comercial:
 $y = 1,0084 x - 0,527$ $r = 0,9926$

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.

Procedimiento n°1:

Medir en tubos de ensayo:	BILIRRUBINA DIRECTA	
	Blanco	Ensayo
Reactivo R1	1 mL	
Reactivo de trabajo		1 mL
Muestra o calibrador	100 µL	100 µL

Mezclar y leer las absorbencias a 550 nm (540-560) contra el blanco después de 1 minuto (2 minutos máximos) de incubación a 37°C.

Procedimiento n°2: Muestras pediátricas o ictéricas

Medir en tubos de ensayo:	BILIRRUBINA DIRECTA	
	Blanco	Ensayo
Reactivo R1	1 mL	
Reactivo de trabajo		1 mL
Muestra o calibrador	20 µL	20 µL

Mezclar y leer las absorbencias 550 nm (540-560) contra el blanco después de 1 minuto (2 minutos máximos) de incubación a 37°C.

Notas:

1. Después de 2 minutos, la bilirrubina indirecta reacciona lentamente con la dicloroanilina diazotada y da valores sobreestimados.
2. Hacer un blanco de reactivo para tener en cuenta la coloración eventual del reactivo de trabajo.
3. Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

Con calibrador (Procedimiento n°1 únicamente):

$$\text{Resultado} = \frac{\text{Abs (Ensayo - Blanco) muestra}}{\text{Abs (Ensayo - Blanco) calibrador}} \times \text{concentración del calibrador}$$

Con factor:

$$\text{Procedimiento n°1: } \begin{aligned} \text{mg/dL} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 14,8^* \\ \mu\text{mol/L} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 253^* \end{aligned}$$

$$\text{Procedimiento n°2: } \begin{aligned} \text{mg/dL} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 68,6^* \\ \mu\text{mol/L} &= [\text{Abs. Ensayo} - \text{Abs. Blanco}] \times 1173^* \end{aligned}$$

* Estos factores se dan a título indicativo y pueden ligeramente variar según el aparato utilizado y el lote de reactivo. Se aconseja verificarlos con la ayuda de un suero de control a tasa elevada (Procedimiento n°1: utilizar BIOLABO EXATROL-P, Procedimiento n°2: utilizar BIOLABO CONTROL PEDIATRICO).

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1133-1137.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 172-177
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p.3-90 à 3-110
- (4) RAND R. N. and DI PASQUA A. *A new diazo method for determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) 8, n°6, p. 570-578*
- (5) GOLUB M. : *An automated method for determination of serum bilirubin. Clin. Chem. (1964) 10, p. 399-405*
- (6) Henry RJ, *Clin Chem: Principles and technics. Harper and Row, p.592(1965).*
- (7) SRM: *Standard Reference Material*®