

REF	A11A01639
REAGENT 1	29,5 mL
REAGENT 2	9,8 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

■ Pentra C400

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de bilirrubina total en suero o plasma mediante colorimetría.

Versión de la aplicación

Suero, plasma: Bili-T

1.xx (neonatos: no utilizar en los EE.UU.)

Uso previsto

ABX Pentra Bilirubin, Total CP es un reactivo diseñado para la determinación diagnóstica cuantitativa *in vitro* de la cantidad total de bilirrubina en el suero y plasma humanos y se basa en una prueba fotométrica que utiliza 2,4-dicloroanilina (DCA).

Uso de laboratorios clínicos.

Las mediciones de los niveles de bilirrubina (directa o total), un compuesto orgánico formado durante la destrucción normal y anormal de los glóbulos rojos, se utilizan para ayudar en el diagnóstico y seguimiento de trastornos hepáticos, eritrocitarios y metabólicos.

Interés clínico (1, 2)

La bilirrubina es un producto que resulta de la descomposición de la hemoglobina. Libre, la bilirrubina no conjugada es extremadamente apolar y prácticamente insoluble en agua, por lo que forma un complejo con la albúmina para transportarse en la sangre desde el bazo hasta el hígado. En el hígado, la bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico y el ácido glucurónico de bilirrubina soluble en agua que resulta se excreta a través de los conductos biliares.

La hiperbilirrubina puede ser el resultado del aumento de producción de bilirrubina debido a una hemólisis (ictericia prehepática), a daños parenquimales en el hígado (ictericia intrahepática) o una oclusión de los conductos biliares (ictericia posthepática). La hiperbilirrubina congénita crónica (predominantemente no conjugada),

denominada síndrome de Gilbert, es muy frecuente en la población. Se observan niveles altos de la bilirrubina total en el 60-70% de los recién nacidos a causa de un aumento de la descomposición de los eritrocitos tras el parto y el retraso de la función de las enzimas para la degradación de la bilirrubina. Los métodos de bilirrubina más comunes detectan tanto la bilirrubina total como la bilirrubina directa. La determinación cuantitativa de la bilirrubina directa mide principalmente la bilirrubina soluble en el agua conjugada. De esta manera, la bilirrubina no conjugada puede valorarse como la diferencia entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa.

Método (3)

Ensayo fotométrico usando 2,4-dicloroanilina (DCA). La bilirrubina directa en presencia de 2,4-dicloroanilina diazotizada forma un azocompuesto de color rojo en solución ácida. Una mezcla específica de detergentes asegura la correcta determinación cuantitativa de la bilirrubina total.

Reactivos

ABX Pentra Bilirubin, Total CP está listo para su uso.

Reactivo 1:

Disolución amortiguadora con 50 mmol/L fosfato	
NaCl	150 mmol/L

Reactivo 2:

2,4-Diclorofenol-sal de diazonio	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

ABX Pentra Bilirubin, Total CP debe utilizarse siguiendo este aviso. El fabricante no puede garantizar su funcionamiento si se utiliza de otro modo.

Manipulación

1. Retire los dos tapones del casete.
2. En caso de que haya espuma, retírela con una pipeta de plástico.
3. Coloque el casete en el compartimento de reactivos refrigerado.

Calibrador

Para la calibración utilice:

ABX Pentra Multical (A11A01652) (no incluido)
10 x 3 mL (líoofilizado)

Control

Para el control de calidad interno utilice:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (no incluido)
10 x 5 mL (líoofilizado)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (no incluido)
10 x 5 mL (líoofilizado)

Cada control debe realizarse diariamente y/o tras una calibración.

La frecuencia de los controles y los intervalos de confianza deben adaptarse a las exigencias del laboratorio y a las normativas específicas de cada país. Debería seguir las normativas federales, estatales y locales para someter a prueba materiales de control de calidad. Los resultados deberán encontrarse dentro de los límites de confianza definidos. Cada laboratorio establecerá el procedimiento que deberá seguirse cuando los resultados se encuentren fuera de dichos límites de confianza.

Materiales necesarios, pero no suministrados

- Analizador automático de química clínica: Pentra C400
- Calibrador: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controles:
ABX Pentra N MultiControl (1300054414)
ABX Pentra P MultiControl (1300054415)

- Equipamiento estándar de laboratorio.

Muestra

Este dispositivo está indicado para la realización de pruebas en la población general.

- Suero.
- Plasma en heparina de litio.

Los anticoagulantes que no estén incluidos en la lista no han sido probados por HORIBA Medical y por tanto no se recomienda su uso para este ensayo.

Estabilidad (1, 4):

- A 20-25°C: 1 día
- A 4-8°C: 7 días
- A -20°C: 6 meses (si se congela inmediatamente)

Congelar sólo una vez.

Deseche las muestras contaminadas.

Es muy importante conservar las muestras en un lugar protegido de la luz.

En caso de radiación solar intensa, la bilirrubina total se reduce hasta en un 30% después de 1 hora.

Valores de referencia ^a (1)

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia. Los valores que aparecen en este documento deben tomarse sólo como pauta.

	[mg/dL]	[µmol/L]
Neonatos (no para utilizar en los EE.UU.):		
24 horas	< 8,7	< 150
2º día	1,3 - 11,3	22 - 193
3.er día	0,7 - 12,7	12 - 217
4º-6º día	0,1 - 12,6	2 - 216
Adultos:	0,1 - 1,2	1,7 - 21

La sensibilidad clínica y la especificidad, así como los valores predictivos positivos y negativos no se suelen notificar para este analito. Esto se debe, en gran medida, al hecho de que este analito no es el único indicador para la finalidad prevista y la toma de decisiones sobre el tratamiento de un paciente. Para determinar un diagnóstico y un tratamiento, deben utilizarse los

^aModificación: modificación de los valores de referencia.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

resultados de otras pruebas de química clínica rutinarias junto con otra información diagnóstica y la evaluación del estado del paciente por parte de un profesional de la salud especialista.

Conservación y estabilidad

Estabilidad antes de abrir:

Permanece estable hasta su fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se guarda entre 2-8°C.

Estabilidad después de la apertura:

Consulte el párrafo "Rendimiento en el Pentra C400".

No congelar.

Tratamiento de los residuos

Consulte las normas legales locales.

Precauciones generales ^b

- Este reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro* profesional. Para uso en laboratorio.
- Venta exclusiva con receta médica.
- Este reactivo está clasificado como peligroso de conformidad con el Reglamento (CE) N°.1272/2008.

■ Reactivos 1 y 2 (R1 y R2):

Peligro

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H318: Provoca lesiones oculares graves.

P234: Conservar únicamente en el recipiente original.

P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.

P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

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.

P310: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico.

P390: Absorba los derrames para evitar daños en los materiales.

P405: Guardar bajo llave.

P501: Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

■ Reactivo 1 (R1):

H400: Muy tóxico para los organismos acuáticos.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos de larga duración.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P391: Recoger el vertido.

Contiene: Ácido clorhídrico y bromuro de cetrimonio.

■ Reactivo 2 (R2):

Contiene: Ácido clorhídrico y dodecano-1-ol, etoxilado.

- Siga las precauciones estándar de laboratorio para su uso.

- Los casetes de reactivos son desechables y deben desecharse siguiendo las normas locales legales.

- Consulte la ficha de seguridad (MSDS) del reactivo.

- No utilice el producto si presenta pruebas visibles de deterioro biológico, químico o físico.

^bModificación: modificación de las precauciones generales.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

- No utilice el producto si no se han respetado las condiciones de almacenamiento recomendadas, incluida la temperatura.
- El usuario debe haber recibido capacitación por parte de un representante de HORIBA Medical antes de intentar utilizar el dispositivo.
- Es responsabilidad del usuario comprobar que este documento sea aplicable al reactivo utilizado.
- Para obtener asistencia técnica, puede llamar al +33 (0)4 67 14 15 16.
- Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el dispositivo deberá ser comunicado al fabricante y a la autoridad competente del país en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Rendimiento en el Pentra C400

Variabilidad de lote a lote ^c

La recuperación de muestras (suero y plasma) realizada durante el visto bueno del QC de tres lotes de reactivo consecutivos muestra que la variabilidad entre lotes se encuentra dentro de las especificaciones:

Valor de muestra	Especificación
< 20 µmol/L	< 2 µmol/L
> 20 µmol/L	< 10%

Suero, plasma

Los datos de rendimiento que se presentan a continuación son representativos del rendimiento en los sistemas de HORIBA Medical.

Número de tests: 130 pruebas

Si el número de ensayos solicitados es bajo y el usuario del Pentra C400 desea obtener la máxima estabilidad del casete en el equipo, HORIBA Medical recomienda utilizar el consumible XEC232 (kit membrana) para alcanzar el número de ensayos citados en esta información.

Estabilidad del reactivo en el equipo

Una vez abierto, el casete de reactivo colocado en el compartimento refrigerado del Pentra C400 permanece estable durante 25 días.

Volumen de muestra: 8 µL/test

Límite de detección

El límite de detección se ha determinado siguiendo las recomendaciones del protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) y es de 1,49 µmol/L (0,09 mg/dL).

Límite de cuantificación

El límite de cuantificación se ha determinado siguiendo las recomendaciones del protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2(5) y es de 2,4 µmol/L (0,14 mg/dL).

Exactitud y precisión

Repetibilidad (precisión intraensayo)

Repetibilidad según las recomendaciones que figuran en el protocolo Valtec (6) con muestras analizadas 20 veces:

- 2 controles
- 5 muestras (niveles bajo / medio / alto)

	Valor medio µmol/L	Valor medio mg/dL	% CV
Muestra de control 1	16,6	1,0	2,14
Muestra de control 2	87,6	5,1	0,99
Muestra 1	10,3	0,6	3,09
Muestra 2	14,6	0,9	2,23
Muestra 3	37,7	2,2	1,33
Muestra 4	142,8	8,4	0,83
Muestra 5	312,0	18,7	0,51

Reproducibilidad (precisión total)

Reproducibilidad según las recomendaciones que figuran en el protocolo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (7) con muestras analizadas por duplicado durante 20 días (2 series por día):

- 2 controles
- 3 muestras (niveles bajo / medio / alto)

	Valor medio µmol/L	Valor medio mg/dL	% CV
Muestra de control 1	16,9	1,0	4,04
Muestra de control 2	94,1	5,5	1,70
Muestra 1	13,6	0,8	5,97
Muestra 2	49,0	2,9	2,78
Muestra 3	156,1	9,1	2,20

Intervalo de medida

El ensayo confirmó un intervalo de medida de 2,4 µmol/L (0,2 mg/dL) a 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL).

^cModificación: Se añadió la especificación de variabilidad entre lotes.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

El intervalo de medida se amplía hasta 1350,0 µmol/L (79,0 mg/dL) con la posdilución automática.

El valor máximo de linealidad del reactivo se ha establecido en 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL), de acuerdo con las recomendaciones del protocolo EP06-Ed2 (8) del CLSI (NCCLS).

Correlación (muestras de adultos)

Muestras de paciente: Muestras de Suero

Número de muestras de paciente: 101

Las muestras se correlacionan con un reactivo comercial tomado como referencia siguiendo las recomendaciones del protocolo EP09c (9) del CLSI (NCCLS).

Los valores oscilan desde 5,75 µmol/L (0,34 mg/dL) hasta 441,90 µmol/L (25,85 mg/dL).

La ecuación de la recta alométrica obtenida con el procedimiento de regresión Passing-Bablok (10) es:

$$Y = 1,024 X - 2,402 \text{ (µmol/L)}$$

$$Y = 1,024 X - 0,1405 \text{ (mg/dL)}$$

con un coeficiente de correlación $r^2 = 0,995$.

Correlación (muestras neonatales (no para utilizar en los EE.UU.))

Muestras de pacientes: suero

Número de muestras de paciente: 111

Las muestras se correlacionan con un reactivo comercial tomado como referencia siguiendo las recomendaciones del protocolo EP09c (9) del CLSI (NCCLS).

Los valores oscilan desde 3,40 µmol/L (0,20 mg/dL) hasta 432,75 µmol/L (25,32 mg/dL).

La ecuación de la recta alométrica obtenida con el procedimiento de regresión Passing-Bablok (10) es:

$$Y = 0,953 X + 0,2755 \text{ (µmol/L)}$$

$$Y = 0,953 X + 0,01612 \text{ (mg/dL)}$$

con un coeficiente de correlación $r^2 = 0,992$.

Interferencias ^d

Hemoglobina: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 290 µmol/L (500 mg/dL).

Triglicéridos: Sin interferencias significativas hasta una concentración de triglicéridos de 4,40 mmol/L (385 mg/dL).

Ácido ascórbico: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 340 µmol/L (5,98 mg/dL).

Ibuprofeno: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 2,43 mmol/L (50,10 mg/dL).

Acetaminofén: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 1324 µmol/L (20 mg/dL).

Ácido acetilsalicílico: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 3,62 mmol/L (65 mg/dL).

N-acetil-p-benzoquinona hasta una concentración de 250 µmol/L (3,73 mg/dL).

Eltrombopag: Sin interferencias significativas hasta una concentración de 30 mg/dL.

Young ha indicado otras limitaciones recogidas en una lista de medicamentos y variables preanalíticas de los cuales se sabe que afectan a esta metodología (11, 12).

Estabilidad de la calibración

El reactivo se calibra a Día 0. La estabilidad de la calibración se verifica sometiendo a prueba 2 controles.

La estabilidad de la calibración es de 10 días.

Nota: Se recomienda ejecutar una nueva calibración si se cambia de lote de reactivo o si los resultados del control de calidad exceden el intervalo establecido.

Factor de conversión

$$\mu\text{mol/L} \times 0,585 = \text{mg/L}$$

$$\mu\text{mol/L} \times 0,0585 = \text{mg/dL}$$

Referencia

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 1125-1177.
3. Rand RN, Di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) **6**: 570-8.
4. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.
5. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
6. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.

^dModificación: modificación de interferencias.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

7. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
8. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
9. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
10. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
12. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.