

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa de la bilirrubina directa en suero, utilizando el analizador Yumizen C560. **Rx Only.**

Historia del método

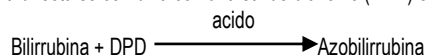
Desde que, en 1883, Ehrlich introdujera el método diazo para la determinación de bilirrubina¹ se han propuesto diversas modificaciones para mejorar la reacción. El método de Malloy y Evelyn² emplea metanol para catalizar la reacción de acoplamiento azoico de la bilirrubina indirecta, así como para mantener la azobilirrubina en solución. Una seria desventaja de este método es el hecho de que la proteína puede ser precipitada por la solución de metanol para producir falsos resultados bajos.

En 1938, Jendrassik y Grof³ presentaron un ensayo que dio resultados fiables. Sin embargo, el método es engorroso e implica varios pasos de pipeteo.

El método presentado aquí fue desarrollado por Wahlefeld et al.⁴ El reactivo diazo es tetrafluoroborato de 2,5-diclorofenildiazonio (DPD) que reacciona muy rápidamente al acoplarse con la bilirrubina en condiciones ácidas. El procedimiento resultante es simple, pero muestra una buena correlación en comparación con el método de Jendrassik y Grof.

Principio

La bilirrubina directa se combina con una sal de diazonio (DPD) en un medio fuertemente ácido (pH 1 – 2).



La intensidad del color de la azobilirrubina producida es proporcional a la concentración de bilirrubina directa y puede medirse fotométricamente.

Reactivos

Reactivo de bilirrubina directa R1: disolución amortiguadora ácida 50 mmol/L, reactivo de bilirrubina directa R2: disolución amortiguadora ácida >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD y estabilizadores

Precauciones y peligros

- Los reactivos son tóxicos y corrosivos. No pipetee con la boca. Evite el contacto con la piel y la ropa.
- Este reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.

Peligros:

R1 y R2: Clasificación de peligro Corrosión/irritación de la piel (Categoría 1), Lesiones oculares graves/irritación ocular (Categoría 1)

Indicaciones de peligro: H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves, H318: Provoca irritación ocular grave

Consejos de prudencia: **Prevención:** P260: No respirar polvo/ humo/ gas/ niebla/ vapores/ aerosoles. P264: Lavar la piel a fondo después de la manipulación. P280: Utilizar guantes protectores/ropa protectora/protección ocular/protección facial. **Respuesta:** P310: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volverlas a utilizar. P301+P330+P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. 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.

P304+P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición cómoda para respirar. 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.

Almacenamiento: P404: Almacene en un recipiente cerrado. **Eliminación:** P501: Deseche el contenido en el sistema de alcantarillado después de diluirlo con grandes volúmenes de agua, si está de acuerdo con las regulaciones locales. Véase la ficha de datos de seguridad de este producto (SDS-HB936) disponible llamando al (+1) 734-487-8300.

Preparación de los reactivos

Los reactivos se suministran listos para usar.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

- Los reactivos envasados pueden almacenarse a una temperatura de 2-8°C. El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta cuando se almacena según las instrucciones.
- Los estudios del fabricante han demostrado que el reactivo es estable durante 30 días una vez colocado en el carrusel de reactivos refrigerado (2-10°C). Sin embargo, la estabilidad del reactivo puede variar según las condiciones de cada laboratorio.
- No congele los reactivos.
- Evite la exposición a la luz solar directa.

Deterioro de los reactivos

- No usar si los reactivos muestran evidencia de contaminación microbiana (turbidez).
- Si el R2 desarrolla una precipitación muy ligera que se vuelve a disolver cuando el R2 se calienta despacio, se puede usar el reactivo.
- No se debe utilizar el reactivo R2 que contiene un precipitado que no se vuelve a disolver y provoca la decoloración del producto.
- No lo use si el reactivo no logra alcanzar los valores de ensayo asignados de los sueros de control nuevos.

Extracción y almacenamiento de muestras

- Se recomienda suero nuevo y sin hemolizar.⁵
- Las muestras deben analizarse dentro de las dos horas posteriores a la extracción si se mantienen a temperatura ambiente y en la oscuridad y dentro de las doce horas si se mantienen refrigeradas (2-8°C) y protegidas de la luz.⁶
- La bilirrubina en suero es estable durante tres meses cuando se almacena congelada (-20°C) y protegida de la luz.⁶
- La luz solar directa puede causar una disminución de la bilirrubina de hasta un 50% en una hora.⁷
- La extracción de muestras debe realizarse de conformidad con NCCLS M29-T2. Ningún método puede ofrecer una garantía total de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, todas las muestras de sangre deben considerarse potencialmente infecciosas.

Interferencias

- Todos los estudios de interferencia se realizaron de conformidad con los procedimientos recomendados en la directriz NCCLS N°. EP7-P para pruebas de interferencia en química clínica.⁸
- Los niveles de hemoglobina sérica de hasta 66 mg/dL no interfieren con los resultados.
- Los triglicéridos séricos hasta 500 mg/dL no interfieren con los resultados.



Palabra de advertencia: Peligro

Conjunto de reactivos Bilirrubina directa Pointe

- Una serie de fármacos y sustancias afectan a los resultados de la bilirrubina. Véase Young, et al.⁹

Materiales suministrados

Reactivos de bilirrubina directa R1 y R2

Materiales necesarios, pero no suministrados

- Analizador Yumizen C560.
- Manual de instrucciones de Yumizen C560.
- Calibrador químico, número de catálogo C7506-50
- Control químico, número de catálogo C7592-100

Calibración

Utilice el calibrador químico Pointe (Número de catálogo C7506-50). Siga las instrucciones de aplicación del instrumento para la calibración. Consulte las instrucciones del manual del instrumento para conocer los procedimientos y la frecuencia de calibración. Se recomienda que cada laboratorio determine su propia frecuencia de calibración. Si los resultados del control están fuera de rango, es posible que sea necesario volver a calibrar la prueba. En condiciones de funcionamiento típicas, los estudios de estabilidad de calibración del fabricante han demostrado que la curva de calibración será estable durante, al menos, 14 días.

Control de calidad

La validez de la reacción debe controlarse mediante el uso de sueros de control con valores de bilirrubina directa normales y anormales conocidos. Estos controles deben realizarse, al menos, con cada turno de trabajo en el que se realicen análisis de bilirrubina directa. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de determinación de control. Los requisitos de control de calidad deben realizarse de conformidad con la normativa local, estatal y/o nacional o con los requisitos de acreditación.

Valores esperados (Directa)^{7,11}

Adultos y bebés (de más de un mes): 0 – 0,5 mg/dL

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Limitaciones

- Las muestras con valores superiores a 10 mg/dL deben diluirse 1:1 con solución salina isotónica, volver a analizarse y el resultado final multiplicarse por dos.
- Los niveles séricos de hemoglobina de hasta 66 mg/dL y triglicéridos de hasta 500 mg/dL no interfieren con los resultados.

Rendimiento

- Rango del ensayo: 0,0 - 10,0 mg/dL
- Comparación: Se realizó un estudio entre el Yumizen C560 y un analizador similar, utilizando este método, que dio como resultado lo siguiente:

Método	Bilirrubina directa
N	135
Bilirrubina Directa media (mg/dL)	1,625
Rango (mg/dL)	0,00-9,20
Desviación estándar	2,472
Análisis de regresión	$y = 1,097x - 0,065$
Coefficiente de correlación	0,9912

- Precisión: Los estudios de precisión se realizaron, utilizando el analizador Yumizen C560 siguiendo una modificación de las pautas del documento del NCCLS EP5-T2.¹⁰

Muestra	Intraserial		
	BAJO	MEDIO	ALTO
N	20	20	20
Media	0,74	5,08	9,80
Desviación estándar	0,05	0,04	0,00
Coefficiente de variación (%)	6,8%	0,8%	0,0%

Muestra	Total		
	BAJO	MEDIO	ALTO
N	40	40	40
Media	0,77	5,08	9,79
Desviación estándar	0,04	0,18	0,26
Coefficiente de variación (%)	6,6%	4,8%	2,7%

- Sensibilidad: Límite de detección 2SD (95% Conf) = 0,0 mg/dL

Referencias

- Ehrlich, P., Charite Ann. 8:140(1883).
- Malloy, H.T., Evelyn, K.A., J. Biol. Chem. 119:481 (1937).
- Jendrassik, L., Grof, P., Biochem. Zeitschr. 297:81 (1938).
- Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest. 29 Supplement 126(1972).
- Michaelsson, M. Scand. J. Clin. Lab. Invest (Suppl. 49) 13:1 (1961)
- Martinek, R.G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
- Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, P. 1028 (1976).
- NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
- Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
- NCCLS document, "Evaluations of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
- Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

PARÁMETROS QUÍMICOS

Quím:	DBIL	N.º:	205	Tipo de muestra:	Suero
Química:	Bilirrubina directa			Imprimir nombre:	DBIL
Tipo de reacción:	Criterios de valoración			Dirección de reacción:	Positivo
Onda Pri:	546			Onda Sec:	660
Unidad:	mg/dL			Decimal	0,1
Tiempo de blanco:	47 49			Tiempo de reacción:	80 82
	Vol. de la muestra	Aspirado	Diluyente	Vol. del reactivo	Diluyente
Estándar:	2,7 uL	--- uL	--- uL	R1:	120 uL --- uL
Reducido:	--- uL	--- uL	--- uL	R2:	31 uL -- uL
Aumentado:	--- uL	--- uL	--- uL	R3:	--- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Muestra en blanco	<input checked="" type="checkbox"/> Reproceso automático		R4:	--- uL --- uL
Ajuste de pendiente/compensación					
Pendiente: 1		Compensación: 0			

Rango de linealidad (Estándar)	0	10	Límite de linealidad:
Rango de linealidad (Reducido)	---	---	Agotamiento del sustrato:
Rango de linealidad (aumentado)	---	---	Abs de blanco mixto:
Abs de blanco de R1:	---	---	Hora de destape
Respuesta de blanco:	---	---	Límite de alarma del reactivo:
Química idéntica:			<input type="checkbox"/> Extensión lineal de enzimas
<input type="checkbox"/> Comprobación de prozona		<input type="radio"/> Verificación de tasa	<input type="radio"/> Adición de antígeno
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Conjunto de reactivos Bilirrubina directa Pointe

PARÁMETROS DE CALIBRACIÓN

Definición de calibrador						
Calibrador:	*	N.º de lote:		*		
Fecha caduc:	*					
Carrusel	Pos					
Carrusel de muestras 1	*					
Carrusel de muestras 2						
Carrusel de muestras 3						
Reactivo/Calibración						
<u>Calibrador</u>	<u>Pos.</u>	<u>N.º Lote</u>	<u>Fecha caduc</u>	<u>Quím</u>	<u>Conc</u>	<u>Unidad</u>
Agua	A	*	*	DBIL	0	mg/dL
Calibrador químico	*	*	*	DBIL	*	mg/dL
Configuración de calibración						
Quím:	DBIL					
<u>Configuración de la calibración</u>						
Modelo Mat:	Lineal de dos puntos					
Factor:			Réplicas:	2		
<u>Límites de aceptación</u>						
Tiempo Cal:	336	Hora				
Dif. Pendiente:	---	SD:		---		
Sensibilidad:	---	Repetibilidad:		---		
Coef. Deter:	---					
<u>Auto Calib.</u>						
<input type="checkbox"/> Frasco cambiado	<input type="checkbox"/> Lote cambiado	<input type="checkbox"/> Tiempo Cal				

Se recomienda analizar diariamente dos niveles de material de control. * Indica el parámetro definido por el usuario.

REF 14-HB936-200



Fabricado por
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeo Autorizado:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Clave de símbolo



Usar antes de (AAAA-MM-DD)



Lote y código de lote



Número de catálogo



Fabricante



Limitación de temperatura



Consultar instrucciones de uso



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* **Rx Only:** Venta exclusiva con receta médica