MEDICA

REF 10212-4 4 x 29 mL/8 mL

BILIRRUBINA DIRECTA (DBIL)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 29 mL de reactivo R1 y 8 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo de bilirrubina directa EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la Bilirrubina Directa (DBIL) en suero humano, mediante el "Analizador químico MEDICA EasyRA" en laboratorios clínicos. Las mediciones de bilirrubina se usan para el diagnóstico y tratamiento de trastornos del hígado, hemolíticos, hematológicos y metabólicos, incluyendo hepatitis y bloqueo de la vesícula biliar. Utilizar únicamente para diagnóstico *in-vitro*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La bilirrubina es un pigmento de la hemoglobina y se encuentra presente en el suero como resultado de la destrucción de células rojas. El aumento de los valores de bilirrubina pueden ser un resultado de procesos hemolíticos, enfermedades del hígado o trastornos del tracto biliar. La bilirrubina existe en dos formas; no conjugada (indirecta) y conjugada (directa). La bilirrubina no conjugada es transportada al hígado donde es ligada por la albúmina, se convierte en conjugada (directa) con ácido glucorónico y es eventualmente excretada. La bilirrubina no conjugada no es soluble en solución acuosa y requiere de alcoholes y otros solventes para su solubilización. Los ensayos que involucran estas clases de solventes brindan la cantidad total de bilirrubina. Los conjugados de bilirrubina mono y diglucurónido son solubles en agua y los ensayos de estos miden la bilirrubina directa. El método estándar descrito por Ehrlich [1] involucra la reacción de la bilirrubina con un reactivo diazo (por ejemplo: ácido sulfanílico diazotizado) para formar el compuesto cromóforo azobilirrubina. Este ensayo mide la bilirrubina directa (conjugada) basándose en su combinación con una sal de diazonio en presencia de ácido sulfámico para formar la azobilirrubina.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Esta reacción de punto terminal se basa en usar una sal de 2,4-diclorofenil diazonio como reactivo diazo.

Bilirrubina directa +2,4-diclorofenil diazonio → Sal de azobilirrubina

La bilirrubina directa (conjugada) se liga con el reactivo diazo para formar azobilirrubina. El aumento de la absorbancia medida a 550 nm es proporcional a la concentración de bilirrubina directa.

REACTIVOS

Reactivo DBIL (R1)

EDTA-Na_2	0,1 mmol/L
NaCl	154 mmol/L
Ácido sulfámico	100 mmol/L

Reactivo DBIL (R2)

Sal de 2,4-diclorofenil diazonio	5 mmol/L
HCL	0,9 mol/L
EDTA-Na_2	0,13 mmol/L

Precauciones

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (*NCCLS*, GP17-A2).
2. NO las inhale ni las ingiera, y evite cualquier contacto con la piel y los ojos. En caso de contacto con los ojos, lave con abundante agua y vea a un médico. En caso de contacto con la piel, lave inmediatamente con agua durante 10 minutos. En caso de ingestión, vea a un médico inmediatamente.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

Instrucciones para la manipulación, el almacenamiento y la estabilidad de los reactivos

VIDA UTIL: 24 MESES

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a 2º - 8º C. El reactivo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador químico Medica EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. Si el analizador no tiene la opción de refrigeración, los reactivos se deben cerrar y almacenar a 2º - 8º C después de su utilización. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD
Se debe utilizar suero claro y no hemolizado. Aleje las muestras del sol directo y de la luz artificial ya que la bilirrubina directa (conjugada) es inestable.[2] Este ensayo se debe realizar dentro de las 2 horas después de la recolección debido a que la bilirrubina en la muestra es inestable. Si las muestras no se pueden analizar dentro de este límite de tiempo, guárdelas hasta 3 días a 2º - 8º C.[3] Las muestras solo se pueden guardar por 3 meses a -70º C.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados
Compartimiento de reactivo DBIL (Medica DBIL Reagent Wedge), REF 10212

Materiales adicionales necesarios

Medica EasyCal Chemistry, REF 10651
Medica EasyQC Chemistry – Nivel A, REF 10791 *o*
Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793
Medica EasyQC Chemistry – Nivel B, REF 10792 *o*
Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10794
Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764
Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10760 *o*
Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10761

Instrucciones de uso
El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja para el reactivo del Analizador químico Medica EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 30 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar las tapas y colocar el compartimiento en el analizador. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis. Utilice distintos hisopos o pipetas desechables para los R1 y R2.

Calibración
Se recomienda Medica EasyCal Chemistry, REF 10651 para la calibración del ensayo. El intervalo de calibración (máximo 30 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos. La calibración es necesaria cada vez que hay un cambio en el lote del reactivo o si ocurre un cambio en los valores de control de calidad.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo al menos una vez cada 8 horas y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal-funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio también debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados
Al terminar el ensayo, el Analizador químico Medica EasyRA calcula la concentración de bilirrubina directa de la proporción de la absorbancia corregida de la muestra (sustrayendo la absorbancia del blanco del reactivo y del blanco de la muestra) con la absorbancia similarmente corregida del calibrador (después de sustraer la absorbancia del blanco del reactivo y del blanco de la muestra) multiplicada por la concentración del calibrador.

$$\text{DBIL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{700}}) - (A_{RBlk_{550}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{550}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{700}}) - (A_{RBlk_{550}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{550}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF} \times ValorCal$$

Donde A_U es la absorbancia de la muestra desconocida, A_{RBlk} es la absorbancia del blanco del reactivo asociado con la muestra desconocida, SBIK es la absorbancia del blanco de la muestra asociado con la muestra desconocida. Todas las absorbancias con un subíndice “C” están asociadas con el calibrador. Como consecuencia de agregar más tarde el reactivo R2, existe un factor de corrección de dilución (dF) que se incluye en el cálculo.

Valores esperados[3]
El rango de referencia para la DBIL en suero es el siguiente:

Adulto: 0,0 - 0,20 mg/dL (0,0 - 3,4 µmol/L)

Se sugieren estos valores solamente como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)
Sólo se deben utilizar muestras de suero no hemolizado. Esta prueba no se ha evaluado en neonatos.

El Analizador químico Medica EasyRA marca cualquier resultado por encima de 10 mg/dL como Alta Linealidad "LH". Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará efectivamente el rango a reportar del análisis de DBIL a 20 mg/dL.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO[4]

Rango a reportar
El rango a reportar es de 0,08 a 10 mg/dL. El rango extendido es de 0,08 a 20 mg/dL cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (NCCLS, EP9-A2)
La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del Reactivo Medica para DBIL (y) utilizando una longitud de onda primaria de 550 nm y una longitud de onda secundaria de 700 nm con el rendimiento del mismo reactivo DBIL (x) en el Analizador químico Medica EasyRA utilizando una longitud de onda primaria de 550 nm solamente . Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas obtenidas en el Analizador químico Medica EasyRA vs. el promedio de 2 valores replicados obtenidos en el Analizador químico Medica EasyRA.

Número de muestras	53	Rango de muestras	0,06 hasta 9,50 mg/dL.
Pendiente	1,0376	Intercepto con y	0,0456
Coeficiente de correlación	0,9986	Ecuación de regresión	Y = 1,0376*X - 0,0456

Imprecisión (NCCLS, EP5-A2).
Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días.

Dentro de la imprecisión corriente:

Nivel del control de calidad mg/dL	**Dentro de la depleción de sustrato actual mg/dL**	**Dentro del CV %**
3,41	0,04	1,08
1,37	0,01	0,98
0,74	0,01	1,50

Imprecisión total:

Nivel del control de calidad mg/dL	**Imprecisión total de depleción de sustrato mg/dL**	**Imprecisión total del CV %**
3,41	0,08	2,36
1,37	0,03	2,02
0,74	0,02	2,64

Linealidad (NCCLS, EP6-A)
Lineal desde 0,06 a 10 mg/dL, con base en la regresión lineal Y = 0.9974*X - 0.0517.

Límite del blanco (LOB):	0,01 mg/dL	(NCCLS, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	0.043 mg/dL	(NCCLS, EP17-A)
Límite de cuantificación (LoQ):	0,05 mg/dL	(NCCLS, EP17-A)

Sustancias de interferencia (NCCLS, EP7-A)
Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".
Existe una interferencia significativa de la hemoglobina. ***Sólo*** se deben utilizar muestras de suero no hemolizado.
No se encontró interferencia significativa en niveles hasta 1142 mg/dL de triglicéridos.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.[5, 6]

REFERENCIAS

1. Ehrlich, P., *Sulfadiazobensol, ein Reagens auf Bilirubin*. Centr. Klin. Med. 4; 721-723 (1883).
2. Gordon, E.R., *The Conjugate of Bilirubin. Hepatology* (NY) 2: 19 (1975)
3. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds),Tietz Textbook or Clinical Chemistry, 2nd ed edition, W.B. Saunders C0., Philadelphia (1994).
4. Datos de los archivos de Medica.
5. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC. AACC Press, 1995.
6. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Parámetros de ensayo (DBIL) EasyRA

Longitud de onda primaria (nm)	550
Longitud de onda secundaria (nm)	700
Tipo de reacción	Punto terminal (2)
Dirección de la reacción	Aumento
Blanco del reactivo	Sí (con cada calibración)
Blanco de la muestra	Sí
Tiempo de reacción	4,5 min.
Intervalo de calibración (máximo)	30 días
Estabilidad integrada del reactivo	30 días

Suero

Volumen de la muestra (µl)	10,0
Volumen del diluyente 1 (µl)	10
Volumen del diluyente 2 (µl)	10
Volumen del reactivo R1 (µl)	160
Volumen del reactivo R2 (µl)	40
Puntos decimales (valores predeterminados)	2
Unidades (valores predeterminados)	mg/dL
Factor de dilución para extender el rango de medición	1:1
Linealidad	0,06 hasta 10 mg/dL

Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA

EC REP Emergo Europe, Molenstraat 15
NL-2513 BH The Hague, The Netherlands