

	Consultar la metodología
REF	Código
LOT	Denominación de lote
IVD	Para Uso en Diagnóstico in Vitro
	Contenido suficiente para <n> ensayos
CAL	Calibrador
CON	Control
STD	Patrón
R<n>	Reactivo y su número / abreviación
	Temperatura Límite
	Estable hasta (ultimo día del mes)
	Elaborado por
	Riesgo biológico
	Corrosivo

	Tóxico
	Inflamable
	Nocivo / Irritante
	Material reciclable
	No exponer al sol



BILIRRUBINA

USO DEL PRODUCTO

Para la determinación de Bilirrubina Directa y Total en Suero o Plasma.
Método Color Diazo-Reacción.

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

Las causas más comunes del aumento de la bilirrubina directa son las enfermedades hepato-celulares y de los conductos biliares. El aumento de la bilirrubina indirecta, puede indicar:
1) Un aumento de la producción (hemólisis)
2) Disminución en el transporte (anticuerpos y medicamentos)
3) Defecto en la captación (defecto o bloqueo de los receptores)
4) Defecto en la conjugación (enfermedad de Gilbert, entre otras)

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se basa en la producción de azopigmento rojo en medio neutro, por reacción directa de la bilirrubina conjugada con el ácido sulfanílico diazotado con nitrito.
Para la reacción de la bilirrubina no conjugada (indirecta) es necesario el agregado de un acelerador que aumente la solubilidad del pigmento en medio acuoso.

REACTIVOS PROVISTOS

Código 81010 (100 determinaciones):
R1 2 frascos con 125ml cada uno. Acelerador
R2 1 frasco con 100ml. Reactivo Sulfanílico
R3 1 frasco con 10ml. Nitrito

Código 81020 (200 determinaciones):

R1 1 frasco con 500ml. Acelerador
R2 1 frasco con 200ml. Reactivo Sulfanílico
R3 1 frasco con 10ml. Nitrito

Código 86004: Bilirrubina Estándar

STD 1 frasco con 500µg
DISOLVENTE 1 frasco con 7ml

Composición de los reactivos provistos

Listos para usar
R1 Acelerador
Solución acuosa de cafeína: 257 mmol/l
Benzoato de sodio: 510 mmol/l
Acetato de sodio: 860 mmol/l
R2 Sulfanílico. Ácido Sulfanílico: 13 mmol/l en HCl: 0,18 mmol/l.
R3 Nitrito. Nitrito de sodio 72 mmol/l en solución acuosa.
STD Vial contenido 500µg de bilirrubina.

Conservación de los reactivos provistos

Todos los reactivos deben conservarse a temperatura ambiente (15-25°C) y protegidos de la luz.
La estabilidad alcanza la fecha de vencimiento indicada en la caja.
Indicios de inestabilidad o deterioro
Cambio de color o presencia de sedimentos es índice de deterioro.
Precauciones y advertencias sobre el uso de los reactivos
Los reactivos son para USO IN VITRO.
Temperaturas superiores a 25°C pueden afectar la estabilidad de los reactivos.

REACTIVOS Y MATERIAL AUXILIAR NO PROVISTO

- Baño maría de 37°C
- Timmer
- Pipetas y micropipetas
- Tubos y Cubetas de vidrio
- Fotómetro o Espectrómetro capaz de medir absorbancia de 520-550nm

MUESTRA

Suero o plasma recogido con heparina.

Condiciones de conservación de las muestras

Hasta el momento de realizarse la determinación, las muestras deben conservarse PROTEGIDAS DE LA LUZ. Procesar en el día. De no ser

posible, realizarlo dentro de las 48hs conservando la muestra en el refrigerador.

Sustancias Interferentes

Ligera a moderada hemólisis causa interferencia.

Manipulación y descarte

Las muestras de pacientes deben manipularse considerándolas potencialmente infecciosas, al igual que el material descartable y los utilizados en el ensayo, que hayan estado en contacto con las mismas. Un procedimiento aconsejado para descartarlos es el siguiente: autolavado a 121°C durante una hora y el tratamiento de los líquidos residuales con hipoclorito de sodio durante una hora a una concentración final del 5%.

ENSAYO

Bilirrubina en suero o plasma.

Preparación del Reactivo DIAZO

Mezclar 20 partes del R2 y una parte del R3.

(Ej.: 1ml y una gota o 50µl)

Estable 15 días a 2-8°C

Debe prepararse en cantidades suficientes para el trabajo diario.

Procedimiento:

En tres tubos rotulados colocar (NOTA 1)

Bilirrubina			
	B	Directa	Total
Muestra	200 µl	200 µl	200 µl
H ₂ O dest.	2,5 ml	2,5 ml	---
R1 Acelerador	---	---	2,5 ml
R2 Sulfanílico	0,2 ml	---	---
Rvo Diazo	---	0,2 ml	0,2 ml
Mezclar cada tubo por inversión inmediatamente después del agregado del reactivo Diazo. Reposar a temp. ambiente. A los 5 minutos exactos leer Bilirrubina Directa. Entre los 5-15 minutos leer Bilirrubina Total. Espectrofotómetro a 530 nm o fotolorímetro a 520-550 nm llevando a cero con agua destilada.			

CÁLCULOS

Previamente corregir las lecturas de las muestras T y D, restándoles el Blanco.
Bilirrubina Total mg/l = lect. corregida x fct.
Bilirrubina Directa mg/l = lect. corregida x fct.
Bilirrubina Indirecta mg/l = Total - Directa

CURVA DE CALIBRACIÓN

Si bien la reacción es lineal hasta 150 mg/l, es conveniente verificar la respuesta del sistema a la longitud de onda de trabajo.

Reconstitución del Estándar de bilirrubina

PROTEGER SIEMPRE DE LA LUZ

Agregar en el vial 5ml exactamente medidos de Solución Disolvente. Dejar reposar a temperatura ambiente unos 10 minutos. Agitar otros 5 minutos hasta disolución total. La concentración resultante es de: Bilirrubina 100mg/l.

Se recomienda su utilización dentro de la hora de preparado para obtener máxima precisión en el cálculo del factor. La estabilidad de la solución mantenida en el congelador es de por lo menos 48 horas.

Procedimiento: En tubos rotulados colocar

Concentración mg/l	25		50		100	
Tubo	B1	1	B2	2	B3	3
Patrón	50 µl	50 µl	100 µl	100 µl	200 µl	200 µl
H ₂ O dest.	2,6 ml	---	2,6 ml	---	2,5 ml	---
R1 Acelerador	---	2,6 ml	---	2,6 ml	---	2,5 ml
R2 Sulfanílico	0,2 ml	---	0,2 ml	---	0,2 ml	---
Mezclar agitando moderadamente						
Rvo Diazo	--	0,2ml	--	0,2ml	--	0,2ml
Mezclar cada tubo por inversión inmediatamente después del agregado del reactivo Diazo						
Reposar 5 minutos a temp. 15-25 °C						
Leer en espectrofotómetro a 530 nm o fotolorímetro a 520-550 nm llevando a cero con agua destilada. Color estable 15 minutos.						

Con los valores de lectura corregidas y los correspondientes a la concentración, construir un gráfico.

Si se verifica respuesta lineal, calcular para cada tubo:

Bilirrubina mg/l

Factor colorimétrico= -----

Lec. corregida

Factor colorimétrico (fct): promedio de los valores anteriores.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda procesar juntamente con las muestras, sueros control normal y anormal para controlar la performance del ensayo. Se aconseja el uso de Qualiset Sueros Control Nivel 1 y 2 GT Lab (Códigos 602105-602205) Cada Laboratorio debe diseñar su propio sistema de Control de Calidad Interno y establecer las medidas correctivas si se superan los límites de tolerancia aceptables.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos

Bilirrubina Total: hasta 10mg/l

Bilirrubina Directa: 2mg/l

Recién nacido

Hasta 60mg/l dentro de las primeras 24 horas de vida, pudiendo llegar hasta 100mg/l al clumplir la semana de vida.

Los valores esperados para prematuros son mayores para los mismos tiempos ya que la inmadurez hepática es más significativa.

SISTEMA ANALÍTICO

1. Linealidad: Hasta 150mg/l.

2. Límite de Detección: En espectrofotómetro, el límite de detección es de 0.2mg/l.

3. Precisión:

	Nivel Medio	Rango	D.S.	C.V.%
D	2.1 mg/l	1,9-2,2 mg/l	±0,11 mg/l	5,2
T	45,2 mg/l	42,2-48,1 mg/l	±0,52 mg/l	1,1

Interensayo

	Nivel Medio	Rango	D.S.	C.V.%
T	45,1 mg/l	42,2-48,1 mg/l	±0,61 mg/l	1,3

PRESENTACIÓN

Código 81010: 100 determinaciones

Código 81020: 200 determinaciones

Código 86004: Bilirrubina Estándar 5ml - 6 curvas

NOTAS

1. Los volúmenes de muestras y reactivos a utilizar, pueden disminuir o aumentar siempre que se mantengan las proporciones establecidas en el procedimiento.

Aplicaciones para autoanalizadores se encuentran disponibles.

BIBLIOGRAFÍA

1.JENDRASIK, GRAFT: Biochem. 2,297,6 (1938).

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Garantía de Calidad del Producto

GT Laboratorio elabora y comercializa productos para análisis uso IN VITRO siguiendo normas BPF (Buenas Prácticas de Fabricación), ISO 13485:2016. Los términos y condiciones de calidad son absolutos dentro de la competencia de responsabilidad, que corresponda a GT Laboratorio. Cualquier alteración en los productos elaborados por GT Lab serán reconocidos sin cargo de ningún tipo para el usuario. Todo reclamo de calidad deberá efectuarse por escrito debidamente firmado y sellado por el profesional responsable, con el detalle del desperfecto, acompañando el producto en cuestión para su examinación técnica por el Departamento de Control de Calidad de GT Lab. Los reclamos deberán ser enviados a través del Distribuidor que efectuó la venta. Las reposiciones y/o respuestas técnicas serán cursadas de forma fehaciente al Profesional usuario.

INFORMACIÓN PARA CONTACTARSE

 GT Laboratorio S.R.L.
Necochea 3274 (S2001QXL) Rosario – Santa Fe – Argentina
Tel / Fax: +54 (341) 481-1002 y rot.
e-mail: infoprofesional@gtlab.com.ar
www.gtlab.com.ar

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.
Autorizado por A.N.M.A.T. Disp N° 438 / Disp. N°3755 / PM 2243 - 103
Establecimiento Inscripto y Habilitado por ANMAT
Dir. Tec: Jorgelina Castillo. Bioquímica.
Elaborado por: GT Laboratorio S.R.L.
Industria y Tecnología Argentina

