

Bilirrubina Jendrassik-Gróf FS*

Para la determinación *In Vitro* de bilirrubina directa y bilirrubina total en equipos fotométricos según el método Jendrassik-Gróf

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase
1 0849 99 90 336	<ul style="list-style-type: none"> ● 1 x 90 mL reactivo 1 solución ácido sulfanílico ● 1 x 25 mL reactivo 2 solución sodio nitrito ● 2 x 100 mL reactivo 3 acelerador ● 2 x 100 mL reactivo 4 licor de Fehling II

Principio

La bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotado (DAS) formando un colorante que es rojo en un ambiente neutral y azul en un ambiente alcalino. Los glucoronidos hidrosolubles de la bilirrubina reaccionan "directamente" con DAS mientras la bilirrubina "indirecta" reacciona solo en presencia de un acelerador. La bilirrubina en suero y plasma se determina según Jendrassik-Gróf mediante una reacción con ácido sulfanílico diazotado después de añadir cafeína, benzoato de sodio e acetato de sodio. Con el licor de Fehling II alcalina se desarrolla una azobilirrubina azul cuya concentración también se puede determinar selectivamente en presencia de productos laterales amarillos (coloración intermedio verde) con una longitud de onda de Hg 578 nm. La bilirrubina directa se mide según Schellong y Wende en forma de un colorante azoico rojo sin añadir reactivos alcalinos a Hg 546 nm. La bilirrubina indirecta se calcula de la diferencia entre bilirrubina total y bilirrubina directa.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Ácido sulfanílico diazotado (DSA)	29 mmol/L
	HCl	170 mmol/L
R2:	Nitrito de sodio	29 mmol/L
R3:	Cafeína	130 mmol/L
	Benzoato de sodio	156 mmol/L
	Acetato de sodio	460 mmol/L
R4:	Licor de Fehling II:	
	Tartrato de sodio/potasio	930 mmol/L
	Hidróxido de sodio	1,9 mol/L

Conservación y estabilidad del reactivo

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 15 a 25°C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. ¡No se deben congelar los reactivos!

Advertencias y medidas de precaución

- Reactivo 1: S24/25: Evítese el contacto con los ojos y la piel.
- Reactivo 4 es corrosivo. R35: Provoca quemaduras graves. S1/2: Consérvese bajo llave y manténgase fuera del alcance de los niños. S24/25: Evítese el contacto con los ojos y la piel. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S27/28: Después del contacto con la piel quítese inmediatamente toda la ropa manchada o salpicada y lávese inmediata y abundantemente con agua. S37/39: Úsenle guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. S45: En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstrela la etiqueta). S64: En caso de ingestión, lavar la boca con agua (solamente si la persona está consciente).

- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías.
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación del Reactivo

Los reactivos son listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de 9 g/L

Equipo usual de laboratorio

Muestra

Suero

¡Sin falta proteger las muestras de la luz directa!

Estabilidad [5]:

Bilirrubina directa:	2 días	de	20 a 25 °C
	7 meses	de	4 a 8 °C
	6 meses	a	-20 °C

si se congelan inmediatamente. ¡Congelar una sola vez!

Bilirrubina total:	1 día	de	20 a 25 °C
	7 días	de	4 a 8 °C
	6 meses	a	-20 °C

si se congela inmediatamente. ¡Congelar una sola vez!

¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimiento del Ensayo

Paso óptico 1 cm

Temperatura entre 15 y 25 °C

Método de medida Respecto blanco de muestra

Determinación de la bilirrubina total

(¡Favor tener en cuenta la nota 1!)

Longitud de onda: Hg 578 nm

	Blanco de muestra	Muestra
Reactivo 2	-	50 µL
Reactivo 1	200 µL	200 µL
Reactivo 3	1000 µL	1000 µL
Muestra	200 µL	200 µL
Mezclar; incubar por 10 - 60 min entre 15 y 25°C, después añadir:		
Reactivo 4	1000 µL	1000 µL
Mezclar, después de 5 a 30 min. medir la absorbancia de la prueba contra el blanco de muestra.		

Calculo

Concentración de la bilirrubina total: [mg/dL] = A x 10,5
[µmol/L] = A x 180

Determinación de la bilirrubina directa

(¡Favor tener en cuenta las notas 1 y 2!)

Longitud de onda: Hg 546 nm

	Blanco de muestra	Muestra
Reactivo 2	-	50 µL
Reactivo 1	200 µL	200 µL
Solución NaCl	2000 µL	2000 µL
Muestra	200 µL	200 µL
Mezclar inmediatamente y medir la absorbancia exactamente después de 5 min a una temperatura de 15 a 25°C contra el blanco de reactivo.		

Cálculo

Concentración de la bilirrubina directa: [mg/dL] = A x 14,0
 [µmol/L] = A x 240

Notas para el uso manual

- Para facilitar en series más grandes, primeramente, se pueden mezclar 4 partes de ácido sulfanílico ① y una parte de nitrito de sodio ②. Se pipetea para el análisis en vez de ácido sulfanílico y nitrito de sodio 200 µL de esta solución de diazotización a la muestra. Esta solución se puede utilizar por 2 horas a temperatura ambiente (entre 15 y 25 °C). Resultan los siguientes factores de cálculo:

Para bilirrubina total: = A x 10,3 mg/dL
 = A x 177 µmol/L

Para bilirrubina directa: = A x 13,7 mg/dL
 = A x 235 µmol/L

- Es también posible medir la bilirrubina directa a 578 nm. A tal efecto se añade solamente 1000 µL de salina isotónica a la muestra o al blanco y 5 min después de adicionar el suero hay que adicionar 1000 µL de licor de Fehling II ③. Mezclar y después de otros 5 min medir la absorbancia de la muestra respecto al blanco a 578 nm y 1 cm de paso óptico. Resultan los siguientes factores de cálculo:

Concentración de la bilirrubina directa: = A x 10,5 [mg/dL]
 = A x 180 [µmol/L]

Controles

Para el control de calidad interno deben ensayarse controles con DiaSys TruLab N y P. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	Información de pedido	Presentación
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características**Rango de medida**

El test es adecuado para la medición de concentraciones de bilirrubina de 0,03 – 10 mg/dL. Si se sobrepasan estos valores se recomienda diluir las muestras en una proporción de 1 + 1 con solución de NaCl (9 g/L) y multiplicar el resultado por 2.

Especificidad/Interferencias

En la medición de bilirrubina total no hay interferencias con hemoglobina hasta 400 mg/dL, naproxeno hasta 0,4 mmol/L y lipemia hasta 800 mg/dL triglicéridos. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [6].

Sensibilidad/Límite de Prueba

El límite inferior de prueba es de 0,03 mg/dL.

Precisión Bilirrubina directa

En la serie n = 20	Valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	0,33	0,00	1,44
Muestra 2	0,71	0,01	0,93
Muestra 3	0,15	0,00	3,00

De un día a otro N = 20	Valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	0,77	0,02	2,47
Muestra 2	1,99	0,06	2,82
Muestra 3	3,44	0,13	3,64

Precisión Bilirrubina total

En la serie N = 20	Valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	0,35	0,01	2,15
Muestra 2	1,79	0,01	0,45
Muestra 3	3,86	0,03	0,79

De un día a otro N = 20	Valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	1,37	0,05	3,32
Muestra 2	0,76	0,03	3,33
Muestra 3	5,96	0,09	1,43

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Bilirrubina Total FS (Jendrassik-Gróf) (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 38 muestras:
 $y = 1,01 x - 0,08$ mg/dL; $r = 0,999$.

En la comparación de DiaSys Bilirrubina Directa FS (Jendrassik-Gróf) (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 27 muestras:
 $y = 0,98 x - 0,01$ mg/dL; $r = 0,991$.

Valor de Referencia [1]**Bilirrubina total**

Recién nacidos	24 h	< 8,8 mg /dL	< 150 µmol/L
	2° día	1,3 - 11,3 mg /dL	22 - 193 µmol/L
	3° día	0,7 - 12,7 mg /dL	12 - 217 µmol/L
	4° - 6° día	0,1 - 12,6 mg /dL	1,7 - 216 µmol/L
Niños	> 1 mes	0,2 - 1,0 mg /dL	3,4 - 17 µmol/L
Adultos		0,1 - 1,2 mg /dL	1,7 - 21 µmol/L

Bilirrubina directa

Adultos y niños ≤ 0,2 mg /dL 3,4 µmol/L

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. 1ª ed., Fráncfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. Biochem Zeitschrift 1938;297:82-9.
4. Schellong G, Wende U. Mikromethode zur Bestimmung des Serumbilirubins aus Kapillarblut bei Neugeborenen. Arch Kinderheilkunde 1960; 162:126-35.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1ª ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001;p. 18-9.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

Fabricante



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania