

BILIRUBIN D+T liquicolor

Prueba fotométrica para bilirrubina directa (D) y bilirrubina total (T)
Método modificado Jendrassik/Gróf

Presentación del estuche

REF 10740 2 x 100 ml Estuche completo
IVD

Principio de la reacción

La bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotado (DSA) formando un color rojo. La absorbancia de este color a 546 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina en la muestra. Los glucoronidos de la bilirrubina solubles en agua reaccionan directamente con DSA mientras la bilirrubina "indirecta" conjugada con albúmina reacciona sólo en la presencia de un acelerador.

Bilirrubina total = Bilirrubina directa + Bilirrubina indirecta

Acido sulfanílico + nitrito de sodio → DSA
Bilirrubina + DSA directa → azobilirrubina DIRECTA
Bilirrubina + DSA + acelerador → azobilirrubina TOTAL

Contenido

TBR 1 x 100 ml Reactivo de bilirrubina total (tapa blanca)
Acido sulfanílico 14 mmol/l
Acido clorhídrico 300 mmol/l
Cafeína (acelerador) 200 mmol/l
Benzoato de sodio 420 mmol/l

TNR 1 x 9 ml Reactivo T-nitrito (tapa blanca)
Para la determinación de bilirrubina total
Nitrito de sodio 390 mmol/l (Xn, R 22)

DBR 1 x 100 ml Reactivo de bilirrubina directa (tapa azul)
Acido sulfanílico 14 mmol/l
Acido clorhídrico 300 mmol/l

DNR 1 x 9 ml Reactivo D-nitrito (tapa azul)
Para la determinación de bilirrubina directa
Nitrito de sodio 25 mmol/l

Preparación y estabilidad de los reactivos

Ambos reactivos y las soluciones de nitrito están listos para su uso. Ambos reactivos y las soluciones de nitrito son, aún después de haberse abierto, hasta la fecha de caducidad y almacenados de 15...25°C. Debe evitarse la contaminación.

Muestras

Suero ó plasma con heparina.
Evitar la hemólisis! Las muestras deben estar protegidas de la luz.
Estabilidad: Cuando se almacena la muestra protegida de la luz de 2...8°C la bilirrubina es estable por 3 días.

Ensayo

Longitud de onda: 546 nm
Paso de luz: 1 cm
Temperatura: 20...25°C
Medición: Frente a un blanco de muestra.

Procedimiento

Para bilirrubina total

| | | |
|---|---------|---------|
| Pipetear en cubetas | Blanco | Muestra |
| TBR | 1000 µl | 1000 µl |
| TNR | --- | 1 gota* |
| Mezclar cuidadosamente, incubar de 5 minutos. | | |
| Muestra | 100 µl | 100 µl |
| Mezclar, incubar a temperatura ambiente de 10 a 30 min. Leer la absorbancia de la muestra, frente al blanco (ΔA_{546}). | | |

* 1 gota ≈ 40 µl

Para bilirrubina directa

| | | |
|--|---------|---------|
| Pipetear en las cubetas | Blanco | Muestra |
| DBR | 1000 µl | 1000 µl |
| DNR | --- | 1 gota* |
| Mezclar cuidadosamente, añadir muestra dentro de 2 minutos. | | |
| Muestra | 100 µl | 100 µl |
| Mezclar, incubar a temperatura ambiente exactamente 5 min. Leer la absorbancia de la muestra frente al blanco (ΔA_{546}). | | |

* 1 gota ≈ 40 µl

Cálculos

Calcular la concentración de bilirrubina total y directa usando el factor 13,0.

$C = \Delta A_{546} \times 13,0 = \text{mg/dl}$
 $[\text{mg/dl}] \times 17,1 = [\mu\text{mol/l}]$

Características de la prueba

Linealidad: El ensayo es lineal hasta 25 mg/dl. Para concentraciones de bilirrubina que exceden de 25 mg/dl diluir la muestra 1+4 con solución salina fisiológica (0,9%) y repetir la prueba. Multiplicar el resultado por 5.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía www.human.de/data/gb/vr/su-bildt.pdf o www.human-de.com/data/gb/vr/su-bildt.pdf

Valores de referencia

| Bilirrubina total | [mg/dl] | [µmol/l] |
|-----------------------|---------|----------|
| Recién nacido, hasta: | 5 | 85,5 |
| 5 días, hasta: | 12 | 205 |
| 1 mes, hasta: | 1,5 | 25,6 |
| Adultos, hasta: | 1,1 | 18,8 |
| Bilirrubina directa | | |
| Adultos, hasta: | 0,25 | 4,3 |

Control de calidad

Pueden ser empleados todos los sueros control con valores de bilirrubina determinados por este método. Nosotros recomendamos el uso de nuestro suero para control de calidad de origen animal **HUMATROL** y el suero control de origen humano **SERODOS**.

Notas

- Es importante asegurarse que el reactivo de bilirrubina y el reactivo de nitrito sean muy bien mezclados antes de adicionar la muestra.
- Los niveles de bilirrubina se reducen si la muestra se expone a la luz. La hemólisis también puede causar niveles bajos de bilirrubina por un efecto inhibitorio de la hemoglobina con la reacción diazo.

Literatura

- Jendrassik, L., Gróf, P., Biochem. Z. **81**, 297 (1938)
- Van der Bergh, A. A., Muller, P., Biochem. Z. **77**, 90 (1916)

SU-BILD
INF 1074001 E
11-2004-14



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - e-Mail: human@human.de