

Bilirrubina Jendrassik-Gróf FS*

Para la determinación In Vitro de bilirrubina directa y bilirrubina total en equipos fotometricos según el metodo Jendrassik-Grof

Información de Pedido

N° de pedido

Tamaño del envase

- 1 0849 99 90 336 1 x 90 mL reactivo 1 solución ácido sulfanilico
 - 1 x 25 mL reactivo 2 solución sodio nitrito
 - 2 x 100 mL reactivo 3 accelerador
 - 2 x 100 mL reactivo 4 solución Fehling II

Principio

La bilirrubina reacciona con el acido sulfanilico diazotado (DAS) formando un colorante que es rojo en un ambiente neutral y azul en un ambiente alcalico. Los glucoronidos de la bilirrubina solubles en agua reaccionean directamente con DAS mientras la bilirrubina ,indirecta' conjugada con albumina reacciona solo en presencia de un acelerador. La bilirrubina en suero y plasma se determina según Jendrassic-Gróf mediante reacción con acido sulfanilico diazotada despues de anadir cafeína, Benzoato de Sodio e acetato de Sodio. Con la solución Fehling-II alcálica se produce una azobilirrubina azul, cual concentración tambien se puede determinar en presencia de productos laterales ámarillos con una longitud de onda de Hg 578nm. La bilirrubina directa se mide segun Schellong y Wende sin añadir reactivos alcálicos con Hg 546nm. La bilirrubina indirecta se calcula de la diferencia entre Bilirrubina total y bilirrubina directa.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Acido sulfanilico 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:	Solución de Fehling-II:	
	Tartrato de Sodio/Potassio	930 mmol/L
	Hydroxido 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

- 1. Reactivo 1: S24/25: Evítese el contacto con los ojos y la piel.
- 2. 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, lávense 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. S39: Úsese protección para los ojos/la cara. S45: En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta). S64: En caso de ingestión, lavar la boca con agua (solamente si la persona está consciente).
- 3. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación del Reactivo

Los reactivos ya están listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de 9 g/L

Equipo usual de laboratorio

Muestra

Suero

iProteger en todo caso las muestras de la luz directa! Estabilidad [5]:

Bilirrubina	2 días	de	20 a 25 °C
directa:			
	7 massas	40	4 - 0 00

4 a 8 °C 7 meses -20 °C 6 meses a

si se congelar inmediatamente. iCongelar una sola vez!

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

si se congelar inmediatamente. iCongelar una sola vez! iDesechar las muestras contaminadas!

Procedimento del Ensayo

Paso óptico 1 cm

entre 15 y 25 °C Temperatura

Metodo de medida Respecto blanco de muestra

Determinación de la Bilirrubina total

(véase advertencias 1 y 2) 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 10	- 60 min entre 15 y	25°C, despues
anadir:		
Reactivo 4	1000 μL	1000 µL
Mezclar, después de la prueba contra el b		absorbancia de

Calculo

Concentracion de Bilirrubina Total: $[mg/dL] = \Delta A \times 10,5$ $[\mu \text{mol/L}] = \Delta A \times 180$

Determinacion de la Bilirrubina directa

(véase advertencia 1 y 2) Longitud de onda: Ha 546 nm

Longitud de onda: Hg 546 r	1111	
	Blanco de muestra	Muestra
Reactivo 2 Reactivo 1	- 200 μL	50 μL 200 μL
Solución NaCl	2000 μL	2000 μL
Muestra	200 µL	200 µL
Mezclar inmediatamente	y medir	la absorbancia
exactamente despues de blanco de reactivo.	5 min de 15 a	a 25°C contra el

Calculo

Concentracion de Bilirrubina directa: $[mg/dL] = \Delta A \times 14,0$ $[\mu mol/L] = \Delta A \times 240$

Nota

- En series mas grandes se pueden antes mezclar 4 partes de acido sulfanilico y una parte de nitrito de sodio e. Se pipetea para el analisis en vez de acido sulfanilico y nitrito de sodio 0,2 mL de esta solucion a la muestra. Esta solución se puede utilizar 2 horas a temperatura ambiente (15 − 25 °C). Resultan los siguientes factores de calculo:
 - Para bilirrubina total: 10,3 mg/dL resp 177 mmol/L Para bilirrubina directa: 13,7 mg/dL resp. 235 mmol/L
- Es también possible adicionar solamente 1,0 mL de salina isotonica a la muestra o al blanco y después adicionar 5 min después de adicionar el suero 1,0 mL de solución de Fehling II
 Mezclar y después de otros 5 min medir la absorbancia de la maestra respecto el blanco a 578 nm y 1 cm de paso óptico. Resultan los siguientes factores de calculo:
 - Concentración de la bilirrubina directa: = $\Delta A \times 10.5 \text{ [mg/dL]}$ = $\Delta A \times 180 \text{ [}\mu\text{mol/L]}$
- 3. Cuando se hace la medición de bilirrubina total y de bilirrubina directa con instrumentos simples, otros filtros o cubetas, hay que evaluar los factores de calculo aparte. Para la comparación de valores de diferentes laboratorios se recomienda calibrar la técnica para los instrumentos usados y evaluar los factores respectivos.

Controles

Para el control de calidad interno deben ensayarse controles con DiaSys TruLab N y P con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación		
TruLab N	5 9000 99 10 062	20	Х	5 mL
	5 9000 99 10 061	6	Х	5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20	Х	5 mL
	5 9050 99 10 061	6	Х	5 mL

Características

Rango de medida

El test es adecuado para la medición de concentraciones de bilirrubina de $0,03-10\,\text{mg/dL}$. Si se sobrepasan estos valores se recomienda diluir las muestras en una proporción de $1+1\,\text{con}$ 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 y lipemia hasta 800 mg/dL triglyceridos.

Sensibilidad/Límite de Detección

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

Precisión Bilirrubina directa

En la serie	Valor medio	DE	CV
n = 20	[mg/dL]	[mg/dL]	[%]
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 dia 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	Valor medio	DE [mage/du]	CV
N = 20	[mg/dL]	[mg/dL]	[%]
Muestra 1	0,57	0,007	1,24
Muestra 2	1,79	0,008	0,45
Muestra 3	3,86	0,030	0,79

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

Método de Comparación

En la comparación de Diasys Bilirrubina Total Fs (Jendrassik-Gróf) (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 38 muestras: $y = 1,02 \times -0,20 \text{ mg/dL}$; 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. dia	1,3 - 11,3 mg /dL	22 - 193 µmol/L
	3. dia	0,7 - 12,7 mg /dL	12 - 217 µmol/L
	4. – 6. dia	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 \leq 0,2 mg /dL 3,4 μ mol/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

- Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. 1^a ed., Fráncfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.
- Tolman KG, Rej R. Liver function. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3^a 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.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001;p. 18-9.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania