	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	1 DE 4
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA BILIRRUBINA TOTAL	CODIGO

1. GENERALIDADES

La bilirrubina se forma en el sistema retículo endotelial por la apertura del núcleo tetrapirrólico en el 70–90%, y el 10-30%, en la médula ósea. La bilirrubina se origina por degradación de los grupos hemo producido para la síntesis de hemoglobina, o desde la misma hemoglobina derivada de la hemólisis intra medular de los eritrocitos.

Se forma en pequeña parte desde la mioglobulina. La cantidad producida es derivada en la sangre, donde se liga con la albúmina y después es capturada desde el hepatocito. En el interior del hepatocito, se liga con ácido glucurónico, y después es excretada en el canal biliar y, desde aquí, se encuentra con la bilis en el intestino. En el intestino, la bilirrubina conjugada es reducida por la flora bacteriana a bilinógeno. Una parte del bilinógeno es eliminada en las heces (estercobilinógeno), otra es reabsorbida por vía portal desde el hígado y nuevamente es excretada con la bilis (bilinógeno). Una parte del bilinógeno huye de la captación del hígado, y es eliminada por el riñón (urobilinógeno).

- a) En la determinación de la bilirrubina, se puede evidenciar:
- b) Una fracción directa, correspondiente a bilirrubina conjugada (glucuronada).
- c) Una fracción indirecta, correspondiente a la forma no conjugada libre.
- d) La bilirrubina total, correspondiente a la suma de las dos fracciones.


2. INDICACIONES

La determinación de la bilirrubina, es un elemento fundamental para el diagnóstico de las patologías ictericas del hígado. Se distinguen tres tipos de ictericias:

- a) **Prehepático o hemolítico:** Debido al aumento de la cantidad de bilirrubina que llega al hígado por fenómenos de hemólisis. En este caso, la fracción aumentada es la indirecta. La patología fundamental es la anemia hemolítica hereditaria (drepanocítica, talasemia etc.) y la anemia adquirida (infecciosas, parasitarias, tóxicas, venenos vegetales o animales, etc.), y anemia hemolítica inmunológica del neonato.
- b) **Posthepático obstructivo:** Debido a un obstáculo orgánico y/o funcional al flujo de la bilis. En estos casos, la fracción que aumenta es la bilirrubina directa; sólo en un segundo tiempo, para el daño del hepatocito puede aumentar la fracción indirecta. La obstrucción puede ser provocada desde litiasis, parasitosis, patología tumoral intrínseca al hígado, o extrínseca, por compresión externa (pancreática, etc.).
- c) **Hepatocelular:** Debido a lesiones hepatocelulares, el hígado no es capaz de capturar la bilirrubina y conjugarla con ácido glucurónico. En este caso, puede aumentar la fracción directa e indirecta. Las causas pueden ser: infecciosas degenerativas, autoinmune, tóxica, tumoral.

3. PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Ayuno en rutina.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	2 DE 4
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA BILIRRUBINA TOTAL	CODIGO

4. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El suero o plasma recolectado usando cualquiera de los anticoagulantes comunes. No deben presentar hemolisis y debe obtenerse de la manera mas rápida para evitar muestras lipemicas.

Las muestras deben ser protegidas de la luz del sol y de la luz artificial blanca, ya que la bilirrubina es altamente foto lábil. Se ha reportado que alrededor del 50 % de la bilirrubina puede perderse cuando se expone a la luz del sol por 1 hora.

5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

La bilirrubina en suero o plasma es estable 4 – 7 días a 2 – 8 °C y por 6 meses cuando se congela.

6. MÉTODO COLORIMÉTRICO

La bilirrubina reacciona en presencia de ácido sulfanílico diazotado (ASD); en un medio alcalino, formando un azo-compuesto de color rojo-violáceo (azobilirrubina), cuya intensidad es proporcional a la cantidad de bilirrubina total presente en la muestra.

La bilirrubina conjugada (directa), muy polar, reacciona directamente en medio acuoso con el diazoreactivo; la bilirrubina no conjugada (indirecta), poco polar, no da directamente la reacción, requiere la presencia de un desarrollador acuoso que posibilite la reacción diazotación. Para que reaccione la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

Ácido sulfanílico + nitrito de sodio —————> ASD

Bilirrubina + ASD —————> Azobilirrubina directa


Bilirrubina + ASD + acelerador —————> Azobilirrubina total

7. MATERIALES

- a) Guantes descartables no estériles.
- b) Tubos de hemolisis.
- c) Puntas de pipeta 50 ul.
- d) Marcadores de vidrio.

8. EQUIPOS

- a) Agitador Vortex.
- b) Centrífuga.
- c) Espectrofotómetro Estar fax.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	3 DE 4
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA BILIRRUBINA TOTAL	CODIGO

- d) Baño María.
- e) Reloj cronometro.
- f) Pipetas automáticas 50 ul.

9. PROCEDIMIENTO

- a) Pipetear en celdillas marcadas como RB, K y S los siguientes volúmenes (ml), mezclar bien después de cada adición.

Tabla Nº 1: Control de la Bilirrubina Total

Variables técnicas	RB	K	S
Reactivo Total	1.0	1.0	1.0
Oxidante (Gota)	1	1	1
Agua	0.05	-	-
Calibrador (K)	-	0.05	-
Muestra	-	-	0.05

Fuente: Elaborado por Laboratorio Clínico, "Control de la Bilirrubina Total", SSU, 2010.


- b) Dejar que las celdillas incuben a T^o ambiente por un mínimo de 5 minutos.
- c) Leer el Calibrador (K) y muestra (S) vs. Reactivo blanco (RB) a 540 nm antes de 30 minutos.

10. CONTROL DE CALIDAD

Se deberán usar sueros, control normal y patológico, en las mismas condiciones que las muestras.

11. VERIFICAR EL RESULTADO

- a) Si el valor de la bilirrubina total es ≥ 10.0 mg/dl., repetir la medida, si el valor del resultado repetido es el mismo, se puede entregar, si el valor del resultado repetido es diferente, procesar nuevamente la muestra utilizando un control patológico.
- b) Con valores de bilirrubina total \geq de 20.0 mg/dl, repetir la medida, sea concentrada y diluida 1:2 con solución fisiológica con un control patológico.
- c) Si la confrontación del valor concentrado está sobrepuesta al suero diluido y el control está dentro los rangos establecidos, se puede entregar el resultado.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	4 DE 4
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA BILIRRUBINA TOTAL	CODIGO

d) Si el suero diluido no está en relación con el suero concentrado, diluir nuevamente la muestra 1:4, 1:8, 1:16 con solución fisiológica, siempre usando el control patológico.

12. NOTAS SOBRE EL MÉTODO

- a) Es lineal hasta 20 mg/dl.
- b) Tiene una sensibilidad de 0,05 mg/dl.
- c) Es específica para la bilirrubina total.

13. SUSTANCIAS INTERFERENTES

Hemólisis: También con valor muy bajo de Hb, evitar las muestras hemolizadas. La lipemia interfiere de modo relevante. Se han señalado muchas sustancias, drogas en especial, que pueden producir variaciones del resultado de bilirrubina sérica.

14. RESULTADOS

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$\text{Bilirrubina Total} = \frac{A_u - A_{sb}}{A_K} \times 10$$

15. VALOR DE REFERENCIA

- a) Adultos - Hasta 1.2 mg/dl.
- b) Neonatos al quinto día - hasta 12 mg/dl.

16. COMUNICACIÓN DE RIESGO

Se tiene que comunicar inmediatamente con valores ≥ 12.0 mg/dl.