

COMPARACIÓN ENTRE UN MÉTODO TRANSCUTÁNEO CUANTITATIVO PARA MEDIR BILIRRUBINA EN RECIÉN NACIDOS Y UN MÉTODO QUÍMICO DIAZO AUTOMATIZADO.

Gimenez, José María. ¹
Giorgini, María Fernanda. ²
Oviedo, Lourdes. ³
Mladin, Juan. ⁴
Ligorria, Silvia. ⁵

¹ Bioquímico Residente en Sección de Química Clínica - Laboratorio de Análisis Clínicos - Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Córdoba – Argentina.

² Bioquímica Especialista encargada de Nefrología y Medio Interno - Laboratorio de Análisis Clínicos - Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Córdoba – Argentina.

³ Bioquímica en Sección de Química Clínica - Laboratorio de Análisis Clínicos - Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Córdoba – Argentina.

⁴ Bioquímico Especialista encargado de la Sección Química Clínica y Control de Calidad - Laboratorio de Análisis Clínicos - Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Córdoba – Argentina.

⁵ Bioquímica Jefa de Servicio de Laboratorio Bioquímico - Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Córdoba – Argentina.

Correspondencia: Gimenez, José María - Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Misericordia Nuevo Siglo – Dirección: Belgrano 1502, 5000 Córdoba - Teléfono: 03547-446700 - E-mail: pp_8829@hotmail.com.

RESUMEN

Introducción: La evaluación clínica de la hiperbilirrubinemia consta de la estimación visual de la ictericia en la piel, la cual suele ser subjetiva e inexacta, generando una conducta clínica errónea. El uso de mediciones de bilirrubina transcutánea (BTc), es una herramienta de detección adecuada para identificar a los recién nacidos (RN) con o sin ictericia que requieren de una verificación de bilirrubina sérica total (BST). **Diseño:** Trabajo observacional, analítico y transversal. **Entorno:** Hospital Misericordia de la Provincia de Córdoba. **Materiales y métodos:** Se reclutaron 93 RN a los que se les midió el nivel de BTc a partir de la frente o esternón y el nivel de BST. Se utilizó el programa MedCalc para el análisis de comparación a diferentes rangos de concentración. **Objetivo:** Comparar los niveles de BIL obtenidos de RN, utilizando el bilirrubinómetro BiliChek y los cuantificados por método químico diazo automatizado. **Resultados:** Para concentraciones menores de 15 mg/dL de BIL y tamaño muestral (n) de 70, se obtuvo una correlación $r = 0.8750$ [IC:(0.8057 a 0.9207)]; $p < 0.0001$ y una regresión de Deming $y = 0,1614$ [IC:(-1,1302) a 1,4529] + 0,9920 [IC: (0,8721 a 1,1118)] x. Los métodos miden igual, con un error sistemático observado (ESo) en este rango de concentración de 0.8 %. A concentraciones mayores de 15 mg/dL, para $n = 23$, se obtuvo una pobre identidad con un $r = 0.3492$ [IC:(-0,0736) a 0,6656]; $p = 0.1024$ y una ecuación de la recta $y = -16,4714$ [IC:(-54,4900) a 21,5472] + 1,8094 [IC:(-0,4303) a 4,0492] x. Los métodos no son intercambiables, con un ESo de 16,4%. **Conclusión:** Se identificó que la metodología transcutánea a concentraciones menores de 15 mg/dL de BIL, se puede usar para la toma de decisiones médicas; mientras que para concentraciones mayores al valor, se debe recurrir al método químico diazo.

PALABRAS CLAVE: Bilirrubina sérica total (BST), Bilirrubina Transcutánea (BTc), Recién Nacidos (RN), Ictericia (ICT), Kernicterus, BiliChek.

INTRODUCCIÓN

Uno de los exámenes de laboratorio más frecuentes en los recién nacidos (RN) es la medición de bilirrubina sérica total (BST).⁽¹⁾

La ictericia (ICT), enfermedad caracterizada por la aparición de una tonalidad amarilla de la piel y de las escleróticas de los ojos provocados por el exceso de bilirrubina (BIL) en la sangre, ocurre en la mayoría de los RN y debe ser controlada rigurosamente; ya que por más que habitualmente sea benigna, puede llegar a causar encefalopatía aguda por hiperbilirrubinemia (HBIL) o *kernicterus* (definición reservada para las manifestaciones crónicas y secuelas permanentes de la enfermedad por HBIL, generalmente a partir de los 20 mg/ dL). Ambas patologías, son totalmente prevenibles.^(2, 3)

La BIL es una sustancia de desecho que resulta de la degradación de los glóbulos rojos y el organismo la elimina a través del hígado. Antes del nacimiento del bebé, el hígado materno es el encargado de procesar y excretar la BIL. Después de nacer, el RN debe eliminar la BIL sin ayuda de su madre. Es posible que pasen algunos días antes de que el sistema hepático del lactante comience a eliminar la BIL de la sangre a un ritmo mayor al que se produce.^(1, 4) Normalmente, en el caso de los RN a término, los niveles de BIL alcanzan el pico transcurridos 4 a 5 días después del nacimiento, mientras que en los RN prematuros, generalmente desnutridos, el riesgo de ICT es mayor, y suele transcurrir unos días más para observar el pico de mayor concentración.⁽⁵⁻⁷⁾

La evaluación clínica de la HBIL consta de la estimación visual de la ICT en la piel. Sin embargo, esta suele ser subjetiva e inexacta, y puede llegar a generar una conducta clínica errónea.

La medición de la bilirrubina transcutánea (BTc) es una herramienta de detección adecuada para identificar a los RN con o sin ICT que requieren de una verificación de BST; permitiendo así, disminuir el número de exámenes de laboratorio por método químico invasivo.^(1, 8, 9) Para ello, es necesario evaluar la utilidad de esta metodología, debido a las sobrestimaciones y subestimaciones generadas por la misma. El estudio adecuado para tal fin, es el análisis de comparación entre los niveles de BIL detectados por el bilirrubinómetro y el método químico aplicado.^(1, 10)

La medición de BTc es un procedimiento rápido, sencillo, no invasivo e indoloro.^(11, 12)

Objetivo:

- Comparar los niveles de BIL obtenidos de RN, utilizando el bilirrubinómetro BiliChek y los cuantificados por método químico diazo automatizado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: Trabajo observacional, analítico y transversal.

Entorno: Hospital Misericordia de la Provincia de Córdoba.

Muestra: Se reclutó un total de 93 RN de ambos sexos para los cuales el médico neonatólogo solicitó el dosaje de BST, siendo pacientes internados para su seguimiento o ambulatorios saludables (se recomienda la medición de BIL dentro de las primeras 24 horas de nacido tengan o no ICT); o que requerían de una internación o reinternación.

Las muestras para el dosaje de BST se obtuvieron a partir de punciones en el talón de sangre capilar o de punciones venosas tomadas de las venas de la mano del neonato en tubos heparinizados protegidos de la luz directa del sol. Luego se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos y se midieron las concentraciones utilizando el autoanalizador Architect C4000 de Abbott. Muestras hemolizadas o hiperlipémicas no se procesaron debido a que interfieren en las mediciones de BIL. ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾

Se utilizó BiliChek para la medición de BTc. Las determinaciones se obtuvieron a partir de la frente o esternón de los RN mientras estaban en un estado tranquilo. Cada medición fue calculada por el bilirrubinómetro promediando 5 lecturas.

Se fracciono el rango lineal de la técnica para dosar BIL de entre 0,1 a 25 mg/dL en las siguientes concentraciones: 0,1 - 15,0 mg %, 15,1 - 25,0 mg %; y se encasilló cada valor de BIL obtenido en la partición correspondiente. La finalidad es saber cómo se comporta el método transcutáneo a diferentes rangos de concentración del analito, identificando subestimaciones o sobrestimaciones del método transcutáneo respecto al químico catalogado como *gold* estándar.

Criterios de Inclusión y de exclusión:

Criterios de inclusión: RN de ambos sexos con o sin riesgo de HBIL a los que se les solicitó el dosaje de BST por el médico neonatólogo.

Criterios de exclusión: Pacientes pediátricos (ya que el espesor de la piel repercute en los resultados arrojados por el bilirrubinómetro), pacientes con trastornos conocidos de la piel y aquellos que estaban recibiendo fototerapia y/o transfusiones de intercambio.

Requerimiento de calidad e interpretación de la concordancia: el requisito de calidad según CLIA para BIL es del 20%. De este error total máximo permitido (ETp), se le atribuye un 50% al error sistemático permitido (ESp); por lo que para BIL, el ESp será del 10%.

Para que el error sistemático obtenido (ESo) del procedimiento de medida a la concentración evaluada no sea clínicamente significativo, éste debe ser menor que el ESp establecido. Si esta condición se cumple, se concluye que existe una concordancia entre metodologías debido a que no hay una diferencia de medias significativa. De lo contrario, los métodos no son intercambiables debido a que no miden igual.

Análisis Estadístico: Se utilizó el programa MedCalc para el análisis de correlación, regresión de Deming y método de Bland-Altman.

Métodos:

Determinación de BTc: El funcionamiento de BiliChek se basa en dirigir luz blanca hacia la piel del RN y medir a continuación la intensidad de las longitudes de onda específicas devueltas, convertidas en densidades ópticas (OD) para su análisis. Si se conocen las propiedades espectrales de los componentes de la piel, pueden restarse aquellos que causan interferencia (Figura I). Es así como la luz reflejada de la piel de los RN y recogida por el sistema BiliChek, se analiza mediante un complejo algoritmo patentado que finalmente genera una medición cuantitativa de BIL.

La absorción de luz por una molécula es directamente proporcional a su concentración en la red capilar y tejido subcutáneo. ^{(1, 10, 19, 20).}

$$OD_{total} = OD_{d\acute{e}rm} + OD_{mel} + OD_{hemo} + OD_{bili}$$

$$OD_{bili} = OD_{total} - OD_{mel} - OD_{hemo} - OD_{d\acute{e}rm}$$

Figura I: Espectros de absorción de cada molécula particular frente a la longitud de onda.

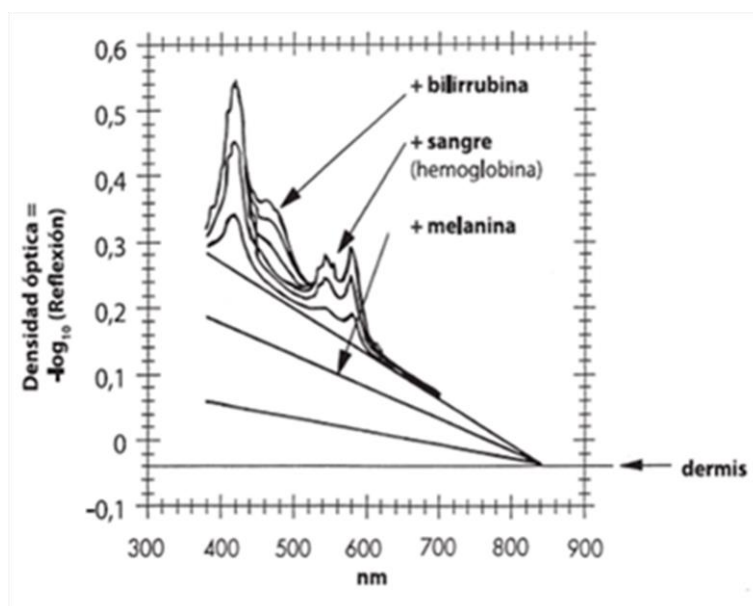


Figura I: Se muestran los espectros de absorción de los interferentes de melanina, dermis y hemoglobina en sus perfiles diferentes de oxihemoglobina y desoxihemoglobina. El pico de absorción de fotones por parte de la BIL se alcanza a una longitud de onda de 460 nm (espectro azul). Figura obtenida y adaptada del manual del monitor BiliChek.

Método químico, determinación de BST: Las muestras de los RN se midieron con metodología marca Abbott, que implementa modificaciones del método diazo y se aplica rutinariamente en la práctica diaria. Es de excelente performance analítica, cuyas características específicas son: linealidad de 0.1 mg/dL a 25 mg/dL (verificada utilizando la guía protocolo de evaluación EP6 – A del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI)), imprecisión tal que el coeficiente de variación porcentual (CV %) total es menor o igual al 5 %, según la guía EP5 – A2 de la CLSI. Se utilizó el autoanalizador Architect C4000.

RESULTADOS

Regresión de Deming y correlación entre metodologías: La comparación de 93 mediciones de BST y BTc, arrojó un coeficiente de correlación de Pearson (r) igual a 0.8530 [Intervalo de confianza (IC) :(0.7859 a 0.9003)]; $p < 0.0001$ y una regresión de Deming que se

observa en la figura II, con una ecuación de la recta $y = 2,1144$ [IC:(0,7790 a 3,4498)] + $0,7851$ [IC:(0,6732 a 0,8970)] x . El IC de la pendiente no incluye al 1, ni el IC de la ordenada al origen incluye al 0, por lo que los métodos no miden igual.

A concentraciones menores de 15 mg/dL, para un tamaño muestral (n) de 70, se obtuvo un r de 0.8750 [IC: (0.8057 a 0.9207)]; $p < 0.0001$ y una regresión de Deming $y = 0,1614$ [IC: ((-1,1302) a 1,4529)] + $0,9920$ [IC: (0,8721 a 1,1118)] x . El IC de la pendiente incluye al 1 y el IC de la ordenada al 0, por lo que no existe diferencia significativa alguna y los dos métodos informan iguales (Figura III). Para el valor crítico de 15 mg/dL utilizando esta ecuación de la recta, se encontró un ESo de 0.3% (menor al ESp).

A concentraciones mayores de 15 mg/dL de BIL, para un n de 23, se obtuvo un $r = 0.3492$ [IC: ((-0,0736) a 0,6656)]; $p = 0.1024$ y una ecuación de la recta $y = -16,4714$ [IC:((-54,4900) a 21,5472)] + $1,8094$ [IC:((-0,4303) a 4,0492)] x , tal como se muestra en la Figura IV. Aquí los IC contemplan al 1 en la pendiente y al 0 en la ordenada al origen; sin embargo, para el valor crítico de 15 mg/dL utilizando la ecuación de la recta para este rango de concentraciones, se observó un ES de 28.9%, el cual es mayor que el ESp teniendo en cuenta el ETp escogido. Además, se evidencia en el gráfico una dispersión significativa de los pares alrededor de la línea recta, sujetos a un error aleatorio y una pobre identidad. Los métodos a estas concentraciones no son intercambiables.

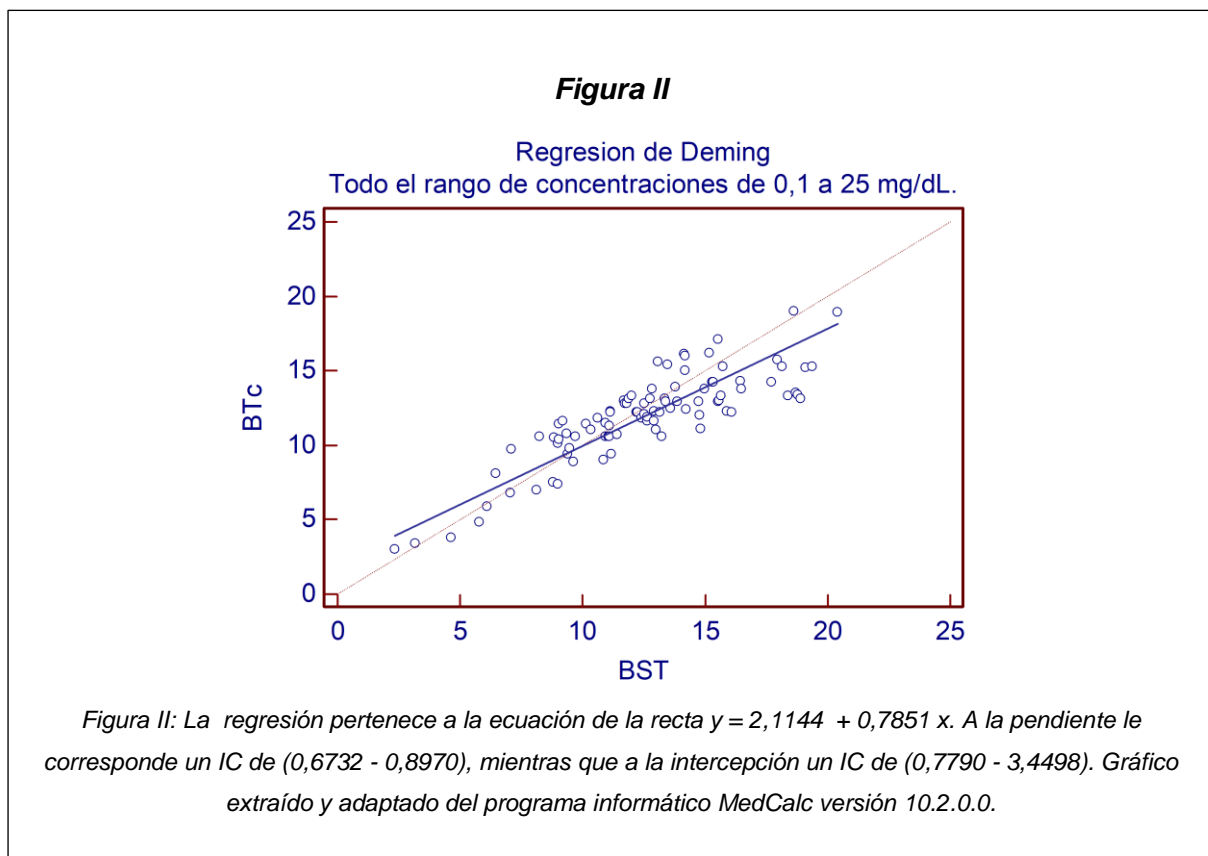


Figura III

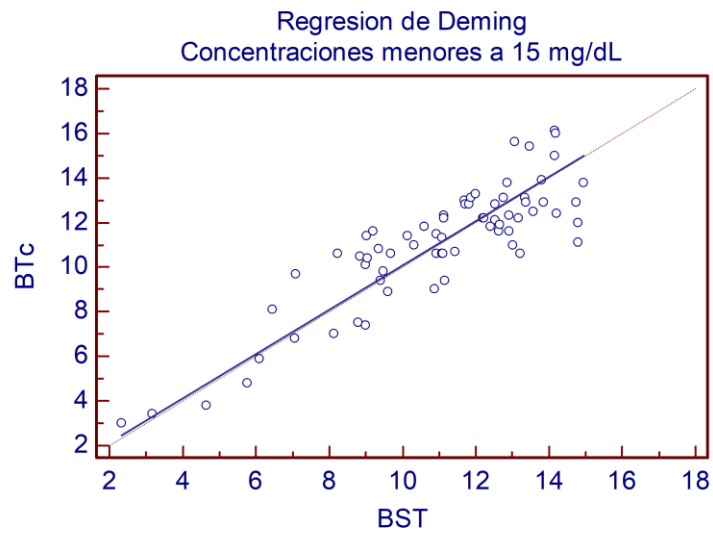


Figura III: La regresión correspondiente pertenece a la ecuación $y = 0,1614 + 0,9920 x$. A la pendiente le corresponde un IC de $(0,8721 - 1,1118)$, mientras que a la intercepción un IC de $((-1,1302) - 1,4529)$. Gráfico extraído y adaptado del programa informático MedCalc versión 10.2.0.0.

Figura IV

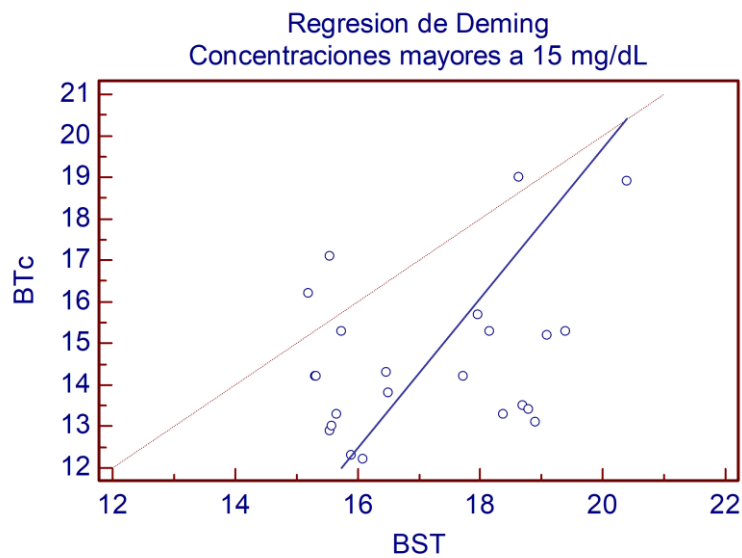


Figura IV: La regresión correspondiente pertenece a la ecuación $y = -16,4714 + 1,8094 x$. A la pendiente le corresponde un IC de $((-0,4303) - 4,0492)$, mientras que a la intercepción un IC de $((-54,4900) - 21,5472)$. Gráfico extraído y adaptado del programa informático MedCalc versión 10.2.0.0.

Concordancia entre BST y BTc: Mediante los gráficos de Bland y Altman de la Figura V, se identificó que a concentraciones de BIL inferiores a 15 mg/dL, existe una diferencia de medias o ESo de 0.8 %, el cual es menor que el ES_p (Figura V – A). Mientras que a concentraciones superiores a 15 mg/dL, se observó un error sistemático del 16,4 %, el cual es mayor al requisito de calidad del 10% de ES_p. (Figura V – B).

Figura V – A y B: Gráficos de Bland y Altman para diferentes rangos de concentraciones.

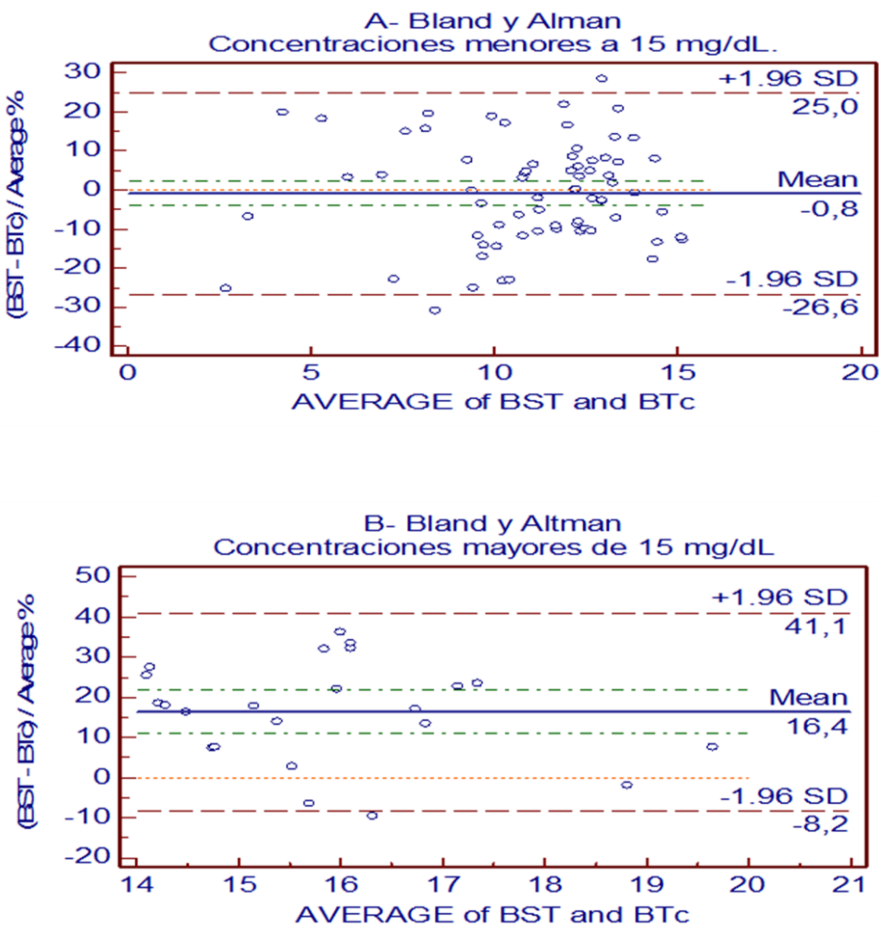


Figura V – A y B: Las líneas azules centrales representan la diferencia de medias entre ambos métodos. Las líneas verdes, representan los IC del bias medio o ES obtenido, los cuales se espera que contengan al bias o ES permitido propuesto como requisito de calidad, para que las metodologías sean concordantes. Las líneas rojas representan los límites de concordancias a una distancia de dos desviaciones estándar por arriba y por debajo de las mismas. Gráficos extraídos y adaptados del programa informático MedCalc versión 10.2.0.0.

DISCUSIÓN

Para avanzar hacia una evaluación sistemática de la ICT, a pesar de las recomendaciones de la Asociación Americana de Pediatría (AAP) para interpretar las mediciones de BIL incorporando monitores transcutáneos, varios estudios de performance analítica de BiliChek han examinado la utilidad de los mismos como predictores de la concentración de BST debido a las subestimaciones y sobrestimaciones generadas.

Dos estudios del monitor de bilirrubina, encontraron que BiliChek sobrestimó levemente el nivel de BST a concentraciones más bajas de BST, pero subestimó a concentraciones de más de 11.7 mg / dL. ^(21,22) Estos resultados indican que a concentraciones bajas, BiliChek tiende a sobrestimar el analito, mientras que a concentraciones altas el equipo subestima, como se obtuvo en este trabajo, pero con la diferencia de un valor de corte de 15 mg/dL.

Un estudio realizado en el Hospital Parkland (nosocomio público más importante del Condado de Dallas) por Engle WD, encontró una concordancia pobre entre las mediciones de BTc y los niveles de BST en RN hispanos con niveles muy altos de BST (mayores de 15 mg/dL). ⁽²³⁾ La misma conclusión fue obtenida en este trabajo.

El análisis de Bland y Altman de Charalambos Neocleous, que comparó las mediciones de BTc y BST en RN griegos con ICT clínica sana a término completo, demostró que la mayoría de los valores de BTc sobrestimaron los niveles de BIL, mientras que a niveles altos de ICT lo subestimaron. ⁽²⁵⁾ Aunque es poco probable que sea clínicamente importante, la sobrestimación de los valores de BST podría cambiar los planes de atención para la ICT en los RN, pudiendo ser protector contra el daño clínico de la HBIL. Por otro lado, en casos donde la BTc subestima, como sucedió con niveles más altos de BIL en nuestro análisis, los RN que requerirían seguimiento o fototerapia, pueden darse de alta de manera errónea.

Los resultados del estudio llevado a cabo por Karyn B. en la población hispana, apoyan el uso de la medición de BTc como una herramienta de primera línea para la detección de HBIL. Éste, dice que si un bebé tiene un nivel de BTc por debajo del percentil 75 para la edad (zona de riesgo leve), es seguro suponer que ese RN tiene un riesgo bajo de desarrollar HBIL clínicamente significativa, y no es necesario realizar más pruebas. ⁽²⁴⁾ En nuestro trabajo, coincidimos en esta observación y añadimos que esto reduciría el número de mediciones de BST, potencialmente doloroso. Estudios realizados por Yap SH y Briscoe L, indicaron que el uso de dispositivos de medición de BTc, puede evitar el muestreo de sangre de aproximadamente entre el 66 % y 80 % de los infantes. ^(26, 27)

Enfatizamos además, que el uso de monitores como una herramienta de pesquisa, también puede resultar en una reducción significativa en los costos de atención médica. A pesar de todo ello, aún no está claro todos los factores que explican la variabilidad en la relación entre

los niveles de BTc y BST. La preanalítica y su error asociado, lamentablemente impactan en ambas metodologías, siendo la principal determinante de las variaciones. Claramente esta incertidumbre, es la causa de un necesario análisis de performance analítica de los bilirrubinómetros para un impacto beneficioso en la salud respecto a la prevención de la HBIL. Un personal bien capacitado y un equipo interdisciplinario consolidado son el sostén en la prevención clínica y el cuidado de los pacientes.

Para los médicos que cuidan a RN, es esencial conocer los valores de BTc hasta los que pueden confiar en el dispositivo de prueba cutánea para evitar mediciones de BST sin que un RN se quede sin intervención terapéutica cuando realmente lo necesita. Por lo tanto, para los fines clínicos, es importante definir un valor de corte que describa la medición más alta en el que cada dispositivo, identifica correctamente una concentración definida de BST. En nuestro trabajo, el análisis de correlación a diferentes rangos de concentración dentro del rango lineal establecido por el fabricante para BIL, arrojó en todos los casos, un coeficiente de Pearson menor a 0.975, por lo que se realizó regresión de Deming para obtener la ecuación de la recta en la comparación de métodos. Además, se determinó la diferencia medias a diferentes rangos de concentración mediante Bland y Altman. Se obtuvo así, el valor crítico de 15 mg/dL, nivel más alto de BIL en donde el monitor BiliChek identifica correctamente con un ES de 0.3% (menor al ES_p) la concentración de BST. La diferencia de medias observada en el rango de entre 0.1 mg/dL a 15 mg/dL, fue de 0.8%, lo que significa que por más que el monitor BiliChek sobrestima ligeramente los niveles de BIL, los valores de BTc hallados se pueden utilizar para predecir el riesgo de hiperbilirrubina para la toma de decisiones médicas, ya que existe una concordancia entre ambas metodologías. A concentraciones mayores de 15 mg / dL de BIL, el bilirrubinómetro subestima notoriamente los niveles de BST con una diferencia de medias de 16.4%, por lo que los métodos no miden igual o no son intercambiables.

Una limitación del estudio fue que los pares de valores obtenidos del analito en los RN, no cubrían de manera homogénea los rangos de concentraciones menores a 5 mg/dL y mayores de 20 mg/dL. Además, en el afán de realizar una comparación entre metodologías, no se tuvo en cuenta lo hallado en un estudio puesto en marcha por Nem-Yun Boo y Shareena Ishak, en donde se trabajó con RN con más de 80 horas de vida, en los cuales la piel más gruesa probablemente afectó a las relaciones entre la BST y BTc. ⁽²⁹⁾ En estudios emergentes, las características de cada RN como las horas de vida, el color de la piel, el peso, las semanas de gestación y el lugar de medición de BTc, serán cruciales para independizarse de las diferencias entre los valores arrojados por ambos métodos debido a dichas causas.

En conclusión, se demostró que en el Hospital Misericordia de la Provincia de Córdoba, la medición de BTc a través del bilirrubinómetro BiliChek, es un método de detección que se

puede utilizar de manera independiente del método químico diazo automatizado si el valor obtenido es menor a 15 mg/dL. A niveles mayores de 15 mg/dL, no es factible utilizar el monitor transcutáneo y se debe recurrir al método químico.

AGRADECIMIENTOS

Gracias

A mi familia por apoyarme en el recorrido de mi formación y mi vida, en mis felicidades y tristezas, aceptando mis traumadas convicciones con infinito amor.

Gracias

A mis tutores, la Dr. Giorgini María Fernanda y el Dr. Mladin Juan por su dedicación para conmigo en mi formación hacia la especialidad en Química Clínica.

Gracias

A mis escasos pero verdaderos amigos, que son mi pasatiempo y mi realidad paralela.

Gracias

A la Dra. Myrian Figueroa y al Dr. Gennero Daniel, por aconsejarme en todo momento tanto humana como profesionalmente.

BIBLIOGRAFIA

1. Fatih Mehmet Şimşek, Fatma Narter, Müferet Ergüven. Comparison of transcutaneous and total serum bilirubin measurement in Turkish newborns. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2014; 56: 612-617.
2. Audrey K. Brown. Kernicterus: Past, Present, and Future. *Neo Reviews* 2003; 4; 33.
3. MARTA HERNÁNDEZ CH, M. IGNACIA SCHMIDT C., ISIDRO HUETE L. Encefalopatía por Kernicterus. Caso Clínico. *Rev. Chil. Pediatr* 2013; 84 (6): 659-666.
4. American Academy of Pediatrics. Guía de práctica clínica. Subcomité para la hiperbilirrubinemia. Manejo de la hiperbilirrubinemia en el recién nacido de 35 o más semanas de gestación. *Pediatrics*, Vol. 114, N° 1 – Julio 2004.
5. Protocolo Clínico de la ABM - 22: Guía para el Manejo de Ictericia en el Lactante Alimentado al Seno Materno, de 35 o Más Semanas de Gestación. *Medicina de Lactancia Materna. Protocolo de la ABM. Volumen 5, Número 2, 2010.*
6. Michael L. Bishop. *Química Clínica. Principios, procedimientos y correlación, función hepática.* Quinta edición. Capítulo 22.
7. Farreras-Rozman, *medicina interna.* Edición XVIII, Volumen 1. Páginas 239-358.
8. Samanta S, Tan M, Kissack C, Nayak S, Chittick R, Yoxall CW. The value of Bilicheck as a screening tool for neonatal jaundice in term and near-term babies. *Acta paediatric* 93: 1486-1490. 2004.
9. Daniele De Luca, Enrico Zecca, Pierluigi de Turrís, Giada Barbato, Marco Marras, Costantino Romagnoli. Using Bilicheck TM for preterm neonates in a sub-intensive unit: Diagnostic usefulness and suitability. Division of Neonatology. Gemelli. Q University Hospital, Catholic University of the Sacred Heart—Rome, Italy. Accepted 29 June 2006.
10. BiliChek, BiliCal and BilEclipse are trademarks of Respironics. Inc. and its affiliates. © 2009 Respironics, Inc. and its affiliates.

11. Robertson A, Kazmierczak S, Vos P. Improved transcutaneous bilirubinometry: comparison of SpectR(X) BiliCheck and Minolta Jaundice Meter JM-102 for estimating total serum bilirubin in a normal newborn population. *J Perinatol* 2002; 22: 12–4.
12. Karon BS, Teske A, Santrach PJ, Cook WJ. Am. Evaluation of the BiliChek noninvasive bilirubin analyzer for prediction of serum bilirubin and risk of hyperbilirubinemia. *J Clin Pathol.* 2008 Dec; 130(6):976-82.
13. Tietz. Carl A. Burtis PhD, Edward R. Ashwood MD, David E. Bruns. *Fundamentals of Clinical Chemistry*, sixth edition. Hemoglobin, Iron, and Bilirubin. Capítulo 28, Página 509 – 520.
14. *La Clínica y el Laboratorio*. Balcells. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Bilirrubina. Edición 20, página 95.
15. Lawrence Kaplan and Amadeo Pesce. *Theory, Analysis, Correlation Clinical Chemistry*. 5th Edition. Capítulo 31, páginas 586 – 600.
16. Bissell M. *Crit Care Nurs Q.* Point-of-care testing at the millennium. 2001 May; 24(1):39-43.
17. YVONNE M. QUALTER, NICHOLAS M. ALLEN, JOHN D. CORCORAN and DONOUGH J. O'DONOVAN. Transcutaneous bilirubin – comparing the accuracy of BiliChek and JM 103 in a regional postnatal unit *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, February 2011; 24(2): 267–270.
18. Boo N, Ishak S. Prediction of severe hyperbilirubinemia using the BiliCheck transcutaneous bilirubinometer. *J Paediatr Child Health.* 2007; 43:297-302.
19. Grohmann K, Roser M, Rolinski B, et al. Bilirubin measurement for neonates: comparison of 9 frequently used methods. *Pediatrics.* 2006; 117:1174-1183.
20. Engle WD, Jackson GL, Sendelbach D, Manning D, Frawley WH. Assessment of a transcutaneous device in the evaluation of neonatal hyperbilirubinemia in a primarily Hispanic population. *Pediatrics* 2002; 110:61–7.

21. Charalambos Neocleous, Alkistis Adramerina, Stefanos Limnaios, Symeon Symeonidis, Chrysoula Spanou, Marina Malakozi, Evangelos Mpampalis. A Comparison between Transcutaneous and Total Serum Bilirubin in Healthy-term Greek Neonates with Clinical Jaundice. Department of Medical Pediatrics, General Hospital of Drama, Drama, Greece. Prague Medical Report / Vol. 115 (2014) No. 1–2, p. 33–42.
22. B. Kolman, MD, Kathleen M. Mathieson, PhD, and Carlos Frias, MD. A Comparison of Transcutaneous and Total Serum Bilirubin in Newborn Hispanic Infants at 35 or More Weeks of Gestation. Karyn. J Am Board FAM Med 2007; 20:266 –271.
23. Yap SH, Mohammad I, Ryan CA. Ir. Avoiding painful blood sampling in neonates by transcutaneous bilirubinometry. J Med Sci. 2002; 171:188–190.
24. Briscoe L, Clark S, Yoxall CW. Can transcutaneous bilirubinometry reduce the need for blood tests in jaundiced full term babies? Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2002; 86:F190–F192.
25. Prediction of severe hyperbilirubinaemia using the Bilicheck transcutaneous bilirubinometer. Nem-Yun Boo and Shareena Ishak. Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia. Journal of Paediatrics and Child Health 43 (2007) 297–302.