

BILIRUBINA CAŁKOWITA

Zestaw odczynnikowy do oznaczania stężenia bilirubiny całkowitej

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. **5016.1**

3 x 50 ml (R1: 3 x 45,5 ml; R2a 1 x 13,5 ml; R2b 1 x 1,4 ml)

Nr kat. **5016.2**

3 x 100 ml (R1: 3 x 91 ml; R2a 1 x 27 ml; R2b 1 x 2,8 ml)



ZASTOSOWANIE

Zestaw służy do oznaczania stężenia bilirubiny całkowitej w surowicy lub osoczu krwi.

ZASADA METODY

Metoda Jendrassika z kwasem sulfanilowym.

W reakcji bilirubiny z dwuazoniową solą kwasu sulfanilowego powstaje barwnik dwuazowy. W reakcję wchodzi zarówno bilirubina bezpośrednia, występująca w formie koniugatów rozpuszczalnych w wodzie, jak i bilirubina pośrednia, związana z albuminą, a uwalniana przez substancje solubilizujące, obecne w odczynniku. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do stężenia bilirubiny całkowitej w próbce.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica lub osocze pobrane zgodnie ze standardowymi procedurami. Nie stosować próbek ze śladami hemolizy. Chronić przed światłem. Próbkę surowicy lub osocza można przechowywać do 2 dni w temp. 2-8°C bez dostępu światła.

WARTOŚCI PRAWDŁOWE

Surowica, osocze: dorośli	< 1,0 mg/dl (17 µmol/l)
noworodki	do 24h 2,0-6,0 mg/dl (34-103 µmol/l)
	do 48h 6,0-10,0 mg/dl (103-171 µmol/l)
	3-5 dni 4,0-8,0 mg/dl (68-137 µmol/l)

Podane wartości należy traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKÓW

R1	
Kofeina	125 mmol/l
Benzoosan sodu	250 mmol/l
Octan sodu	450 mmol/l

R2a	
Kwas sulfanilowy	24 mmol/l
Kwas solny	150 mmol/l

R2b	
Azotyn sodu	10 mmol/l

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Odczynnik R1 jest gotowy do użycia.

Odczynnik R2: mieszać odczynniki R2a i R2b w proporcji 10 + 1 (np. 1 ml + 0,1 ml). Zmieszany odczynnik pozostawić na 30 min. Trwałość odczynnika R2 wynosi 3 tygodnie w temp. 2-8°C lub 2 dni w temp. 15-25°C.

PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKÓW

Przechowywać w temp. 2-8°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynniki prawidłowo przechowywane i chronione przed zanieczyszczeniem są stabilne do daty ważności podanej na opakowaniu.

CHARAKTERYSTYKA UŻYTKOWA

Limit detekcji: 0,02 mg/dl (0,56 µmol/l)

Czułość: 0,033 ΔmA x dl / mg (0,002 ΔmA x l / µmol)

Linowość: 25 mg/dl (437,5 µmol/l). Dla wyższych stężeń próbkę należy rozcieńczyć 0,9 % roztworem NaCl w stosunku 1+1; wynik oznaczenia pomnożyć przez 2.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	1,23	4,66
średnia (µmol/l)	20,91	79,22
% CV	< 2,00 %	< 1,50 %

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	1,2	4,65
średnia (µmol/l)	20,40	79,05
% CV	< 2,50 %	< 2,00 %

Korelacje:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Nie stosować surowic lipemicznych. Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

Do kontroli jakości oznaczeń stosować surowice kontrolne z wartościami bilirubiny całkowitej zmetrykowanymi dla metody Jendrassika z kwasem sulfanilowym. Nie stosować zestawu, jeśli absorbancja odczynnika R1 lub R2 wobec H₂O przy długości fali 550 nm jest wyższa niż 0,030.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

- Fotometr lub analizator automatyczny z termostatowanym gniazdem pomiarowym umożliwiający pomiar absorbancji przy długości fali 550 nm.

- Wzorzec bilirubiny całkowitej lub kalibrator.

- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego.

WYKONANIE OZNACZENIA

Do próbek reakcyjnych napipetować:

	Próba odczynnikowa (PO)	Wzorzec (PW) / próbka (PB)
Odczynnik R1	1000 µl	1000 µl

Doprowadzić do temperatury oznaczenia, następnie dodać:

Wzorzec/próbka	---	50 µl
Woda dest.	50 µl	---

Dokładnie wymieszać, inkubować przez 5 minut w temperaturze oznaczenia (37°C). Odczytać absorbancję A1 wzorca (PW) i próbki (PB) wobec próby odczynnikowej (PO) przy długości fali 550 nm.

Następnie dodać:

Odczynnik R2	100 µl	100 µl
--------------	--------	--------

Dokładnie wymieszać, inkubować przez 5 minut w temperaturze oznaczenia. Odczytać absorbancję A2 wzorca (PW) i próbki (PB) wobec próby odczynnikowej (PO) przy długości fali 550 nm.

OBLICZENIA

$$\text{Stężenie bilirubiny całkowitej} = \frac{A2(PB) - A1(PB)}{A2(PW) - A1(PW)} \times \text{stęż. wzorca}$$

INFORMACJE DODATKOWE

1. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami – przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
2. Aplikacje do analizatorów automatycznych dostarczamy na życzenie.
3. Wzorzec bilirubiny lub multikalibrator do analizatorów automatycznych należy nabywać osobno.

REFERENCJE

1. Michaëlsson Magnus: bilirubin determination in serum and urine, Almqvist & Wiksells, Boktryckeri Aktiebolag, Uppsala 1961.
2. Lott J.A., Dumas B.T.: Direct and total bilirubin tests: contemporany problems, Clin. Chem. 39(4) 641-647 (1993).
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, As-hwood ER. WB Saunders Co., 1999.
4. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).

