

# BILIRUBINA BEZPOŚREDNIA

Zestaw odczynnikowy do oznaczania stężenia bilirubiny bezpośredniej

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. **5015.1**

**3 x 20 ml (R1: 3 x 20 ml; R2a 1 x 5,4 ml; R2b 1 x 0,6 ml)**



## ZASTOSOWANIE

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

## ZASADA METODY

Metoda Jendrassika z kwasem sulfanilowym.

Bilirubina bezpośrednia, występująca w surowicy krwi w formie rozpuszczalnych w wodzie koniugatów, reaguje z dwuazoniową pochodną kwasu sulfanilowego, tworząc barwnik dwuazowy. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do stężenia bilirubiny bezpośredniej w próbce.

## MATERIAŁ DO BADAŃ

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

## WARTOŚCI PRAWDIWE

Surowica, osocze: dorośli < 0,2 mg/dl (3,4 µmol/l)

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

## SKŁAD ODCZYNNIKÓW

### R1

Kwas solny 50 mmol/l

### R2a

Kwas sulfanilowy 24 mmol/l

Kwas solny 150 mmol/l

### R2b

Azotyn sodu 10 mmol/l

## PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA ROBOCZEGO

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 tyg. w temp. 2-8°C lub 2 dni w temp. pokojowej.

## 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:** 0,00 mg/dl (0,00 mmol/l)

**Czułość:** 0,018 Δm x dl / mg (0,0013 Δm x l / µmol)

**Liniowość:** 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)  | 0,9      | 1,79     |
| średnia (µmol/l) | 15,75    | 31,33    |
| % CV             | < 5,00 % | < 2,50 % |

## Odtwarzalność (między seriami)

| poziom           | I        | II       |
|------------------|----------|----------|
| n                | 18       | 18       |
| średnia (mg/dl)  | 0,86     | 1,76     |
| średnia (µmol/l) | 15,05    | 30,8     |
| % CV             | < 6,00 % | < 3,00 % |

## Korelacje:

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

## Interferencje:

Bilirubina całkowita do 16 mg/dl nie wpływa na wyniki oznaczeń.

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

## KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

Do kontroli jakości oznaczeń stosować surowice kontrolne wartościami bilirubiny bezpośredniej zmetrykowanymi dla metody kwasem sulfanilowym.

## DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

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

- Wzorec bilirubiny bezpośredniej lub kalibrator.

- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego.

## WYKONANIE OZNACZENIA

Do próbek reakcyjnych napipetować:

|              | Próba odczynnikowa (PO) | Wzorec (PW) / próbka (PB) |
|--------------|-------------------------|---------------------------|
| Odczynnik R1 | 1000 µl                 | 1000 µl                   |

Doprowadzić do temperatury oznaczenia, następnie dodać:

|               |       |       |
|---------------|-------|-------|
| Wzorec/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

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

#### **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: contemporary problems, Clin. Chem. 39(4) 641-647 (1993).
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> edition. Burtis CA, As-hwood ER. WB Saunders Co., 1999.
4. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4<sup>th</sup> ed. (1995).