

BILIRUBIN UKUPAN

Ref: BLU-200; BLU-500

Bioanalytica

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije ukupnog bilirubina u serumu.

METODA

Diazonijum jon spektrofotometrijska metoda.

KLINIČKI ZNAČAJ

Ukupan bilirubin predstavlja sumu nekonjugovanog i konjugovanog bilirubina. Do povećanog nivoa ukupnog bilirubina dolazi u uslovima opstrukcije bilijarnih puteva, hepatitisa, ciroze jetre, kao i u uslovima nedostatka pojedinih enzima.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Ukupan bilirubin reaguje sa diazonijum jonom sulfanilne kiseline u prisustvu akceleratora formirajući azo-boju čiji je intenzitet proporcionalan koncentraciji ukupnog bilirubina u serumu ^{1,2}.

REAGENSI

Bilirubin ukupan, Ref: BLU-200 se sastoji od 2 reagensa:

Rg.1 (Pufer reagens) 2 x 100 mL
Rg.2 (Stabilizovan diazonijum jon) 1 x 10 mL

Bilirubin ukupan, Ref: BLU-500 se sastoji od 2 reagensa:

Rg.1 (Pufer reagens) 5 x 100 mL
Rg.2 (Stabilizovan diazonijum jon) 1 x 10 mL

SASTAV REAGENASA

Aktivne komponente :

Sulfaminska kiselina 100 mmol/L
Akcelerator 0,5 %
Stabilizovan diazonijum jon 10 mmol/L

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Rad sa 1 reagensom : Reagensse priprema tako što se u 40 mL

Rg.1 (pufer reagens) rastvori jedna merica Rg.2 (stabilizovan diazonijum jon).

Rad sa 2 reagensa : Kolor reagens se priprema tako što se u 10 mL

Rg.1 (pufer reagens) rastvori jedna merica Rg.2 (Stabilizovan diazonijum jon reagens).

STABILNOST REAGENSA

Reagens u originalnom pakovanju je stabilan do isteka označenog roka, ako se čuva na propisanoj temperaturi.

Pripremljen reagens je upotrebljiv 5 dana na sobnoj temperaturi ili 20 dana na 2 - 8 °C. Reagens je potrebno čuvati u tamnoj boci zaštićen od svetlosti.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan i nelipemičan serum zaštićen od svetlosti (bilirubin je fotosenzitivan). Uzorci mogu da se čuvaju tri dana na 2-8°C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator Ref: KLB-012 4x3 mL
- Kontrolni serum N Ref: KSN-020 4x5 mL
- Kontrolni serum P Ref: KSP-020 4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2° 540/660 nm
Kiveta : 1 cm
Temperatura : 20 - 37 °C
Odnos : uzorak / reagens 1 / 20
Reakcija : End Point
Inicijalna A reagensa : < 0.2 Abs

Rad sa jednim reagensom- pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Aspr
Uzorak	50 µL	-	-
Standard	-	50 µL	-
Dejonizovana voda	-	-	50 µL
Kolor reagens	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Promešati pripremljene rastvore i posle 5 minuta izmeriti apsorbcije uzorka (A_{UZ}) i standarda (A_{ST}), prema slepoj probi reagensa (A_{SPR}), na $\lambda = 546$ nm. Razvijena azo-boja je postojana 1 sat.

Rad sa dva reagensa - pipetirati u epruvete :

	Auz1	Ast1	Asp1
Uzorak	20 µL	-	-
Standard	-	20 µL	-
Destilovanu vodu	-	-	20 µL
Pufer	300 µL	300 µL	300 µL

Pripremljene rastvore promešati i posle 2 minuta izmeriti apsorbcije uzorka (A_{UZ1}) i standarda (A_{ST1}) na 540 nm, prema slepoj probi (A_{SP1}), a zatim dodati:

	Auz2	Ast2	Asp2
Rg.2 Kolor reagens	100 µL	100 µL	100 µL

Promešati i posle 3 minuta izmeriti apsorbcije A_{UZ2} i A_{ST2} prema slepoj probi A_{SP2} na 540 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator.

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

Izračunavanje koncentracija bilirubina moguće je izvršiti na sledeći način:

1. Korišćenjem bilirubin kalibratora konstruisati kalibracionu krivu i iz jednačine prave izračunati nepoznatu koncentraciju ukupnog bilirubina.

$$C = \frac{A_{uz2} - A_{uz1}}{A_{st2} - A_{st1}} \cdot C_{st} \quad (\mu\text{mol} / L)$$

2. Korišćenjem faktora izračunatog iz molarne apsorptivnosti bilirubina:

$$c = A_{uz} \cdot 391 \quad (\mu\text{mol/L})$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli : < 19,5 $\mu\text{mol/L}$ ukupnog bilirubina.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 2 do 360 $\mu\text{mol/L}$ bilirubina.

Ukoliko je koncentracija bilirubina veća od 360 $\mu\text{mol/L}$, razblažiti uzorak (1+ 1) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0.5 $\mu\text{mol/L}$

LoQ = 2.0 $\mu\text{mol/L}$

Osetljivost određivanja (S)

S=A/c=2,6 mAbs po $\mu\text{mol/L}$

Interferencije

Na određivanje ukupnog bilirubina ne utiču sledeće supstance:
hemoglobin u koncentraciji (c) < 1000 mg/dL
trigliceridi u c < 2000 mg/dL.

Tačnost određivanja

Za određivanje tačnosti korišćen je kalibrator čija vrednost iznosi 79,0 $\mu\text{mol/L}$ bilirubina, pri čemu su dobijene sledeće statističke vrednosti:

Xsr = 79,24 Sd = 1,241 KV = 1,566 %

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Normalan serum	Xsr = 16.89	Sd = 0.53	KV = 3.16%
Patološki serum	Xsr = 85.96	Sd = 1.46	KV = 1.70%

Reproducibilnost između serija

Normalan serum	Xsr = 16.85	Sd = 0.55	KV = 3.28%
Patološki serum	Xsr = 85.03	Sd = 1.64	KV = 1.92%

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{3,4} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

$$r = 0,99978$$

$$y = 1,0098 x + 0,1519$$

LITERATURA

1. B. Štraus, Medicinska biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1982.
2. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
3. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
4. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____