

BILIRUBIN DIREKTAN

Ref: BLD-250

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije direktnog bilirubina.

METODA

DPD diazonijum jon spektrofotometrijska metoda.

KLINIČKI ZNAČAJ

Bilirubin je jedinjenje koje se formira u retikuloendotelnom sistemu u toku normalne i patološke razgradnje crvenih krvnih zrnaca. Određivanje bilirubina ima značaja u dijagnozi bolesti jetre, hemolitičke anemije. Konjugovan ili direktan bilirubin se izlučuje iz bilijarnog sistema u cirkulaciju kao sterkobilinogen, a nastaje kao produkt metabolizma bilirubina pod uticajem bakterija.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Direktan bilirubin reaguje sa 3,5 dihalofenildiazonijum tetrafluoroboratom (DPD) formirajući azo-boju čiji je intenzitet proporcionalan koncentraciji direktnog bilirubina u serumu ^{1,2}.

REAGENSI

Bilirubin direktan, Ref: BLD-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1) 2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2) 1 x 50 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Sulfaminska kiselina 100 mM
EDTA 0.07 mM
NaCl ≥ 100 mM
Rg.2 DPD ≥ 0.09 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

Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Reagens u originalnom pakovanju je stabilan do isteka označenog roka ako se čuva na propisanoj temperaturi i zaštićen od svetlosti i kontaminacije.

UZORCI

Kao uzorak koristiti serum i plazmu sa heparinom.
Uzorak zaštititi od svetlosti (bilirubin je fotosenzitivan).
Stabilnost : 2 dana na 20 °C
7 dana na 4-8 °C
6 meseci na -20 °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° 546/660 nm
Kiveta : 1 cm
Temperatura : 37 °C
Odnos : uzorak / reagens 1 / 16 / 4
Reakcija : End Point
Inicijalna A reagensa : < 0.100 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz1	Ast1	Asp1
Uzorak	50 µL	-	-
Standard	-	50 µL	-
Dej. voda	-	-	50 µL
Rg.1	800 µL	800 µL	800 µL

Pripremljene rastvore promešati i posle 3-4 minuta izmeriti apsorbcije uzorka (Auz1) i standarda (Ast1) na 546 nm, prema slepoj probi (Asp1), a zatim dodati:

	Auz2	Ast2	Asp2
Rg.2	200 µL	200 µL	200 µL

Promešati i posle 5 minuta izmeriti apsorbcije Auz2 i Ast2 prema slepoj probi Asp2 na 546 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

$$C = \frac{(A2 - A1)_{\text{uzorka}}}{(A2 - A1)_{\text{kalibratora}}} \cdot C_{\text{kalibratora}}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli: < 5 µmol/L direktnog bilirubina.

BILIRUBIN DIREKTAN

Ref: BLD-250

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatoru Roche Hitachi 912.

Opseg merenja

Od 1 do 160 $\mu\text{mol/L}$ bilirubina.

Ukoliko je koncentracija bilirubina veća od 160 $\mu\text{mol/L}$, razblažiti uzorak 1+ 3 sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 4.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,3 $\mu\text{mol/L}$

LoQ = 1,0 $\mu\text{mol/L}$

Osetljivost određivanja (S)

$S=A/c=1,68$ mAbs po $\mu\text{mol/L}$

Interferencije

Na određivanje direktnog bilirubina ne utiču sledeće supstance:

hemoglobin $c < 6,0$ g/L

trigliceridi $c < 11,3$ mmol/L (1000 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 14,5	Sd = 0,41	KV = 2,86 %
Uzorak 2	Xsr = 45,5	Sd = 0,71	KV = 1,55 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 14,5	Sd = 0,46	KV = 3,20 %
Uzorak 2	Xsr = 45,5	Sd = 0,86	KV = 1,90 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza³ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 50 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

Linearna regresija

$y = 1,0156 x + 0,3672$

$r = 0,9998$

Passing-Bablok

$y = 1,013 x - 0,298$

LITERATURA

1. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1986.
2. B. Štraus, Medicinska biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. H. 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.



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 : _____