

**DIRECT BILIRUBIN**
ДИРЕКТЕН БИЛИРУБИН**ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИРЕКТЕН БИЛИРУБИН В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Билирубинът реагира с диазотирана сулфанилова киселина и се получава азобилирубин, който има максимум на абсорбцията при 560 nm във воден разтвор. Наситеността на получения цвят е пряко пропорционална на количеството директен билирубин в пробата.

РЕАГЕНТИ

1. Билирубин реагент:	Sulganilic Acid	32mM
	Hydrochloric Acid	165mM
2. Билирубин нитритен реагент:	Sodium Nitrite	60mM
3. Билирубин калибратор:	N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride salt	5mg/dl = 85.5 µmol/l

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти, като се избягва поглъщане или контакт с кожата или очите. Измийте ръцете си след работа с реагента.

ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНТИТЕ

Работен реагент за директен билирубин: Прибавете 0.005ml (5µl) натриев нитрит реагент на 1.0ml директен билирубин реагент и разбъркайте.
Пример: 0.05ml натриев нитрит / 10ml директен билирубин реагент или 0.1ml натриев нитрит/ 20ml директен билирубин реагент.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Всички реагенти трябва да се съхраняват при стайна температура (15-30°C). Приготвеният работен реагент може да се съхранява до 8 часа в бутилка с кехлибарен цвят на стайна температура. Не замразявайте реагентите. Избягвайте излагането им на пряка слънчева светлина. Реагентът трябва да бъде изхвърлен ако натриевият нитрит реагент има жълто обезцветяване или ако работният реагент не постигне очакваните стойности с пресен контролен серум.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

1. Хемолизата интерферира с теста, следователно трябва да се избягват хемолизирани проби, тъй като те може да имат фалшиво ниски стойности.
2. Всички проби за този тест трябва да не се излагат на светлина.
3. Билирубинът е стабилен в серума 4-7 дни, ако се съхранява на тъмно при 2-8°C.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

В литературата (Young et al) е посочен изчерпателен списък на медикаментите и другите вещества, които влияят на нивото на билирубина.

При този тест материалите които влизат в контакт с пробите трябва да бъдат чисти и незамърсени с тежки метали, химикали и почистващи вещества.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Означете епруветките "слапа проба", "Контроли", "Пациенти". Всяка епруветка изисква и епруветка със сляпа проба.
2. Пипетирайте 1.0 mL директен билирубин реагент във всички епруветки за слепи проби.
3. Подгответе работния реагент.
4. Пипетирайте 1.0ml от работния реагент в означените епруветки.
5. Добавете 0.1 ml (100µl) стандарт, контрол или проба в съответните епруветки. Разбъркайте добре.
6. Оставете всички епруветки да престоят пет минути при стайна температура.
7. Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба. (дължина на вълната 500-550nm).
8. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки.

* ВМЕСТО СТАНДАРТА МОЖЕ ДА СЕ ИЗПОЛЗВА МНОГОЦЕЛЕВИ КАЛИБРАТОР НА ТЕКО ДАЙЪГНОСТИКС.

ЗАБЕЛЕЖКА ПО ПРОЦЕДУРАТА

Крайният получен цвят е стабилен 60 минути.

1. За педиатрични проби с билирубин над 51.3 µmol/l, използвайте 0.05 ml (50µl) от пробата и умножете резултата по 2.
2. Ако спектрофотометърът изисква крайно количество по-голямо от 1.0 ml за точно отчитане, използвайте 3ml реагент и 0.2 ml (200µl) проба.

ИЗЧИСЛЕНИЯ

$\frac{Abs \text{ на пробата} - Abs \text{ на сляпата проба}}{Abs \text{ на калибратора} - Abs \text{ на сл. пр. на калибр.}}$ x конц. на калибр. =

= Директния билирубин (µmol/l)

Пример:

Абсорбция на пробата	= 0.132
Абсорбция на сляпата проба	= 0.120
Абсорбция на калибратора	= 0.450
Абсорбция на сляпата проба на калибратора	= 0.000
Концентрация на калибратора	= 85.5 µmol/l
Тогава	

$$\frac{0.132 - 0.120}{0.450 - 0.000} \times 85.5 = \frac{0.012}{0.450} \times 85.5 = 2.3 \mu\text{mol/l}$$

ОГРАНИЧЕНИЯ

Проби със стойности над 342 µmol/l трябва да се разреждат 1:1 с изотоничен физиологичен разтвор, да се изследват повторно и резултатите да се умножат по 2.
Нива на хемоглобин в серума до 10 g/l не интерферира с резултатите.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Деца (над 1 месец) и възрастни 0 – 8.9 µmol/l

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 342 µmol/l.
2. Чувствителност: 0.17 µmol/l при резолюционна апаратура от 0.001A
3. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод върху 40 пресни серума и два контролни серума, вариращи от 1.7 µmol/l до 11.5 µmol/l даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 0.99x + 0.01$ Точност :

Два контролни серума бяха изследвани за период от 21 дни и бе получена следната точност между дните:

	Ниво 1	Ниво 2
Средна стойн. (µmol/l) N=16	2.2	5.6
Станд. откл.	0.2	0.7
C.V.(%)	7.0	12.0

Два контролни серума бяха изследвани 20 пъти и се получи следната точност в серия:

Средна стойн. (µmol/l) N=20	1.7	3.9
Станд. откл.	0.2	0.5
C.V.(%)	10.0	13.0

RE:12/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1