

**TOTAL BILIRUBIN
ОБЩ БИЛИРУБИН****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ОБЩ БИЛИРУБИН В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Билирубинът реагира с диазотирана сулфанилова киселина и се получава азобилирубин, който има максимум на абсорбцията при 560 nm в диметил сулфоксид (DMSO). Наситеността на получения цвят е пряко пропорционална на количеството общ билирубин в пробата.

РЕАГЕНТИ

- Общ билирубин реагент:
Sulganilic Acid 32mM
Hydrochloric Acid 165mM
DMSO 7M
- Билирубин нитритен реагент: Sodium Nitrite 60mM
- 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, очите или дрехите. Не пипетирайте с уста. Не поглъщайте. Измийте ръцете си след работа с реагента. Третирайте пробите като патенциално заразни.

ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНТИТЕ

Прибавете 0.05ml (50µl) натриев нитрит реагент на 1.0ml общ билирубин реагент и разбъркайте.

Пример: 0.5ml натриев нитрит / 10ml общ билирубин реагент или 1ml натриев нитрит/ 20ml общ билирубин реагент.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите и калибратора при 2-8°C. Приготвеният работен реагент може да се съхранява до 8 часа в бутилка с хехлибарен 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

- Хемолизата интерферира с теста, следователно трябва да се избягват хемолизирани проби, тъй като те може да дадат фалшиво ниски стойности.
- Всички проби за този тест трябва да не се излагат на светлина.
- 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

- Означете епруветките "сляпа проба", "стандарт", "контроли", "пациенти". Всяка епруветка изисква и епруветка със сляпа проба.
- Пипетирайте 1.0 mL общ билирубин реагент във всички епруветки за слепи проби.
- Подгответе работния реагент.
- Пипетирайте 1.0ml от работния реагент в означените епруветки, освен в епруветките за сляпа проба.
- Добавете 0.1 ml (100µl) стандарт, контрол или проба в съответните епруветки. Разбъркайте добре.

- Оставете всички епруветки да престоят пет минути при стайна температура.
- Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба. (дължина на вълната 500-550nm).
- 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.

- За педиатрични проби с билирубин над 51.3 µmol/l, използвайте 0.05 ml (50µl) от пробата и умножете резултата по 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

Abs на пробата – Abs на сляпата проба _____ х конц. на калибр. =

Abs на калибратора – Abs на сл. пр. на калибр.

= Abs билирубин (µmol/l)

Пример

Абсорбция на пробата = 0.575

Абсорбция на сляпата проба = 0.024

Абсорбция на калибратора = 0.480

Абсорбция на сляпата проба на калибратора = 0.004

Концентрация на калибратора = 85.5 µmol/l

Тогава

$\frac{0.575 - 0.024}{0.480 - 0.004} \times 85.5 = \frac{0.551}{0.476} \times 85.5 = 99 \mu\text{mol/l}$

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 3.4 – 17.1 µmol/l

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

- Линейност: 342 µmol/l.
- Чувствителност: 0.17 µmol/l при резолюция на апарата от 0.001A
- Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.99 и уравнение на регресията $y = 1.13x + 0.09$
- Точност:

Два контролни серума бяха изследвани за период от 30 дни и бе получена следната точност между дните.

	Ниво 1	Ниво 2
--	--------	--------

Средна стойн. (µmol/l) N=22	11.6	109.6
-----------------------------	------	-------

Станд. откл.	0.9	10.8
--------------	-----	------

C.V.(%)	7.3	9.7
---------	-----	-----

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

	Ниво 1	Ниво 2
--	--------	--------

Средна стойн. (µmol/l) N=20	11.5	107.4
-----------------------------	------	-------

Станд. откл.	0.3	2.6
--------------	-----	-----

C.V.(%)	2.9	2.3
---------	-----	-----

RE:10/01

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