БИЛИРУБИН ОБЩИЙ (Billirubin total) 1001042

Колориметрический метод с использованием ДМСО для определения общего билирубина.
IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001042 R1 2x150мл, R2 1x10 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА
Билирубин превращается в окрашенный азобилирубин в реакции с диазотизированной сульфаниловой кислотой (ДСК) и измеряется фотометрически. В сыворотке присутствуют две фракции билирубина: билирубин-глюкоронид и свободный билирубин, слабо связанный с альбумином, только первый напрямую реагирует в водном растворе (прямой билирубин), тогда как свободный билирубин требует для реакции растворения с диметилсульфоксидом (DMSO) (непрямой билирубин). При определении непрямого билирубина прямой также определяется, результат соответствует общему билирубину. Интенсивность окраски на длине волны 540 нм прямо пропорциональна концентрации общего билирубина в пробе[1,2,3].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
Билирубин – это продукт разложения гемоглобина, растворим в воде. Он транспортируется из селезенки в печень и выводится с желчью. Гипербилирубинемия – это повышение концентрации билирубина в плазме. Причины гипербилирубинемии:
- общий билирубин: повышение гемолиза, генетические заболевания, желтуха новорожденных, неэффективный эритропоэз и лекарства.
- прямой билирубин: гепатохолестаз, генетические заболевания, повреждение гепатоцитов[1,6,7].

Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 (R1) Общий билирубин	Сульфаниловая кислота Соляная кислота (HCl) Диметилсульфоксид (ДМСО)	30 ммоль/л 50 ммоль/л 7 моль/л
Реагент 2 (R2)	Нитрит натрия	29 ммоль/л
Дополнительно (не входит в набор)	Калибратор билирубина	Кат.№ 1002250

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ
R1/ RT: Коррозирующее вещество (C): R35: Может быть причиной тяжелых ожогов.
S26: В случае попадания в глаза немедленно промойте большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью.

ПОДГОТОВКА
Все реактивы готовы к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАКТИВОВ
Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на упаковке даты (Expiration Date) в плотно закрытых флаконах при 2-8°C. Избегать прямого солнечного света и контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока хранения.
Признаки порчи реагентов:
- наличие частиц и мутности;
- развитие окраски в реагенте 2.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ
- Спектрофотометр или биохимический анализатор с фильтром 555 нм.
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1,0 см.
- Обычное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ
Сыворотка или плазма, без гемолиза[1]. Хранить в защищенном от света месте до начала определения. Стабильность в пробе до 3 месяцев при –18.. –20°C, до 4 дней при 2-8°C и 1 день при 15-25°C.

ПРОЦЕДУРА
1. Условия теста:
   Длина волны: 555 (530-580) нм
   Оптический путь: 1 см
   Температура: 15-25°C
   Измерение: против бланка по каждой пробе.
   Метод: по конечной точке по фактору (326,61) или по стандарту (...), время инкубации точно 5 мин (15-25°C)
2. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.

3. Отдозируйте в кюветы:

	Бланк	Проба	Бланк	Проба
Реагент 1	1,5 мл	1,5 мл	750 мкл	750 мкл
Реагент 2 (нитритный)	–	50 мкл	–	25 мкл
Проба	100 мкл	100 мкл	50 мкл	50 мкл

4. Перемешать, инкубировать точно 5 мин при комнатной температуре (15-25°C).
5. Измерить оптическую плотность каждой пробы против собственного бланка при 555 нм (A).

ВЫЧИСЛЕНИЕ

С калибратором:

$$\text{С общего билирубина (мкмоль/л)} = \text{С калибратора} \times \frac{\text{А пробы} - \text{А бланка пробы}}{\text{А калибратора} - \text{А бланка калибратора}}$$

По фактору:

Общий билирубин (мкмоль/л) = (А пробы – А бланка пробы) x 326,61

Коэффициент пересчета: мг/дл x 17.1 = мкмоль/л.

Для всех методик по конечной точке по фактору необходимо определять коэффициент (фактор) для конкретного прибора по стандарту (калибратору), так как возможно различие в фильтрах, длине оптического пути и т.д.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли с каждой серией проб. Для контроля могут быть использованы нормальные и патологические контрольные сыворотки SPINTROL(кат.№ 1002120 и 1002210). Если результаты контроля вне определенного диапазона, проверьте прибор, реагенты и калибратор.

Каждая лаборатория должна определять собственную систему ведения контроля качества и действий для коррекции при выходе контроля за приемлемые границы.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[1]

Общий билирубин: до **18,81 мкмоль/л** (до 1,10 мг/дл)

Эти значения даны для ориентировочных целей, каждая лаборатория должна определять собственный референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: от *уровня определения* в 1,69 мкмоль/л (0,099 мг/дл) до *предела линейности* в 356,5 мкмоль/л (15 мг/дл). Если получаемые результаты выходят за предел линейности, разведите пробы в два раза физраствором (NaCl 9 г/л) и умножьте результат на 2.

Воспроизводимость:

	Внутри серии тестов (n=20)		Между сериями тестов (n=20)	
Среднее (мкмоль/л)	1,12	5,36	1,01	5,28
SD	0,02	0,12	0,03	0,12
CV %	2,33	2,27	2,70	2,32

Чувствительность: 1 мг/дл = 0,0154 A.

Правильность: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий.

Результаты обследования 50 пациентов были следующими:

Коэффициент корреляции: (r) 0,996. Уравнение регрессии: y=0,9884x + 0,0208.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Гемолиз вызывает повышение уровня билирубина[1,2,3]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение билирубина, представлен в работах Young и др.[4,5].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При определении билирубина у новорожденных, для пробы дозируйте 50 мкл сыворотки. Умножьте результат на 2,2.
2. **У SPINREACT есть адаптации инструкций для многих автоматических анализаторов. Инструкции для них доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.