

БИЛИРУБИН (ОБЩИЙ И ПРЯМОЙ)		БИЛИРУБИН (ОБЩИЙ)		БИЛИРУБИН (ПРЯМОЙ)	
КОД 11515 2x50 + 2x50 мл	КОД 11555 500+ 500 мл	КОД 11510 4 x 50 мл	КОД 11544 2 x 500 мл	КОД 11511 4 x 50 мл	КОД 11545 2 x 500 мл
Хранить при 15-30°C					
Реагенты для измерения концентрации билирубина. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории					

## BILIRUBIN (TOTAL AND DIRECT) BILIRUBIN (TOTAL) BILIRUBIN (DIRECT)



## БИЛИРУБИН (ОБЩИЙ И ПРЯМОЙ) ДИАЗО-СУЛЬФАНИЛ



### ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямой билирубин пробы реагирует с диазо-сульфаниловой кислотой с образованием цветного комплекса, который может быть измерен спектрофотометрически. Прямой и непрямой билирубин соединяются с диазо в присутствии цетримидата<sup>2</sup>. Термин «прямой» и «непрямой» относится к реакционным характеристикам сыровороточного билирубина в отсутствие или присутствии ускоряющего (ускоряющего) реагента, которые только приблизительно являются эквивалентами конъюгированной и неконъюгированной фракциям.

### НАБОРЫ

	Реагент АТ	Реагент АD	Реагент ВТ	Реагент ВD
КОД 11515	2 x 40 мл	2 x 40 мл	2 x 10 мл	2 x 10 мл
КОД 11555	400 мл	400 мл	1 x 100 мл	1 x 100 мл
КОД 11510	4 x 40 мл	—	4 x 10 мл	—
КОД 11544	2 x 400 мл	—	2 x 100 мл	—
КОД 11511	—	4 x 40 мл	—	4 x 10 мл
КОД 11545	—	2 x 400 мл	—	2 x 100 мл

### СОСТАВ

#### БИЛИРУБИН (ОБЩИЙ)

АТ. Реактив. Сульфаниловая кислота 29 ммоль/л, соляная кислота 0.2 моль/л, цетримид 50 ммоль/л.  
ВТ. Реактив. Нитрит натрия 11.6 ммоль/л.

#### БИЛИРУБИН (ПРЯМОЙ)

АD. Реактив. Сульфаниловая кислота 35 ммоль/л, соляная кислота 0.24 моль/л.  
ВD. Реактив. Нитрит натрия 3.5 ммоль/л.

### ХРАНЕНИЕ

Хранить при 15-30°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

#### Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция выше 0.05 при 540 нм (1 см кювета).

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

С. Стандарт билирубина (код 11513). Растворить в 5 мл дистиллированной воды (примечание 1). Концентрация билирубина написана на этикетке. Величина концентрации соответствует Рекомендациям для Стандартных материалов 916а (Национальный Институт Стандартов и Технологий, США). Растворенный стандарт защищать от света. Стабильность раствора составляет 4 часа при 15-30°C и 2 месяца при замораживании по aliquотам до -18°C.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Описание работы: Для определения общего билирубина перелить содержимое пробирки с реактивом ВТ в емкость с реактивом АТ. Для определения прямого билирубина перелить содержимое реактива ВD в емкость с реактивом АD (Примечание 2). Слегка взболтать. Для подготовки других объемов, смешивать в соотношении 1 мл реактива ВТ + 4 мл реактива АТ или 1 мл реактива ВD + 4 мл реактива АD. Сохраняет стабильность в течение 20 дней при температуре 2-8°C.

### НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой (37°C) и фильтром 540 ± 20 нм.  
– Кюветы с длиной оптического пути 1 см (если фактор используется в вычислениях).

### ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, полученная с помощью стандартных процедур.

Билирубин в сыворотке стабилен в течение 2 дней при 2-8°C и хранении в защищенном от света месте.

### ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА

1. Налить реактивы в подписанные пробирки. (примечание 1,3).

	Реагент бланк	Образец бланк	Образец	Стандарт
Дистил. вода	100 мкл	—	—	—
Образец	—	100 мкл	100 мкл	—
Стандарт (S)	—	—	—	100 мкл
Реагент (АТ)	—	1.0 мл	—	—
Рабочий реагент	1.0 мл	—	1.0 мл	1.0 мл

- Тщательно перемешать и оставить пробирки точно на 2 минуты при комнатной температуре.
- Измерять абсорбцию (А) бланков образцов при 540 нм против дистиллированной воды.
- Измерять абсорбцию (А) образцов при 540 нм против бланка реагента.

### ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЯМОГО БИЛИРУБИНА

1. Налить реактивы в подписанные пробирки. (примечание 1,3).

	Реагент бланк	Образец бланк	Образец
Дистил. вода	100 мкл	—	—
Образец	—	100 мкл	100 мкл
Реагент (АD)	—	1.0 мл	—
Рабочий реагент	1.0 мл	—	1.0 мл

- Тщательно перемешать и оставить пробирки точно на 5 минут при 37°C.
- Измерять (А) бланков образцов при 540 нм против дистиллированной воды.
- Измерять абсорбцию (А) образцов при 540 нм против бланка реагента.

### РАСЧЕТ

Концентрация билирубина в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\frac{A_{\text{обр}} - A_{\text{бл.обр.}}}{A_{\text{станд}}} \times \text{Конц. Станд.} = C_{\text{образца}}$$

При вычислении концентрации прямого билирубина, используйте величину абсорбции, полученную для стандарта в процедуре общего билирубина (прим.4).

Мг/дл билирубина x 17.1 = ммоль/л билирубина

### НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Взрослые<sup>3</sup>:

Общий	До 1.0 мг/дл = 17 ммоль/л
Прямой	До 0.2 мг/дл = 3.4 ммоль/л

Новорожденные<sup>3</sup>:

Возраст	Недоношенные	Доношенные
До 24 часов	1.0 - 8.0 мг/дл = 17 - 137 ммоль/л	2.0 - 6.0 мг/дл = 34 - 103 ммоль/л
До 48 часов	6.0 - 12.0 мг/дл = 103 - 205	6.0 - 10.0 мг/дл = 103 - 171 ммоль/л
3-5 дней	10 - 14 мг/дл = 171 - 239 ммоль/л	4.0 - 8.0 мг/дл = 68 - 137 ммоль/л

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

### МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел обнаружения (общий билирубин): 0.03 мг/дл = 0.51 ммоль/л.
- Предел обнаружения (прямой билирубин): 0.02 мг/дл = 0.34 ммоль/л.
- Предел линейности: 20 мг/дл = 343 ммоль/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.
- Сходимость (внутри серии):

Общий билирубин	CV	n	Прямой билирубин	CV	n
0.59 мг/дл = 10.1 ммоль/л	3.0 %	20	0.77 мг/дл = 13.2 ммоль/л	1.2 %	20
6.74 мг/дл = 115.2 ммоль/л	1.0 %	20	1.36 мг/дл = 23.2 ммоль/л	0.5 %	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Общий билирубин	CV	n	Прямой билирубин	CV	n
0.59 мг/дл = 10.1 ммоль/л	3.6 %	25	0.77 мг/дл = 13.2 ммоль/л	2.3 %	25
6.74 мг/дл = 115.2 ммоль/л	3.3 %	25	1.36 мг/дл = 23.2 ммоль/л	0.9 %	25

- Чувствительность (общий билирубин): 88 мА•дл/мг = 5.15 мА•л/ммоль.
- Чувствительность (прямой билирубин): 100 мА•дл/мг = 5.85 мА•л/ммоль.
- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами (примечание 4). Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.
- Интерференция: Гемоглобин (10 г/л) не влияет на результаты. Липемические образцы (триглицериды > 15 г/л) может влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут исказить результат<sup>4</sup>.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Билирубин - побочный продукт, получающийся из гема гемоглобина, высвобождаемого стареющими или поврежденными эритроцитами, которые разрушаются в ретикулоэндотелиальных клетках. После продукции, билирубин транспортируется в печень вместе с альбумином. В гепатоцитах билирубин образует конюгат с глюкуроновой кислотой и экскретируется в желчь. Ряд врожденных и приобретенных заболеваний влияет на продукцию, поглощение, метаболизм и экскрецию билирубина, приводя к гипербилирубинемии<sup>3,5</sup>.

Повышение общего билирубина наблюдается у новорожденных (физиологическая желтуха), при повышенном разрушении красных кровяных клеток (гемолитическая анемия, обширная гематома), при нарушении эритропоэза, и при некоторых редких генетических заболеваниях (синдроме Жильбера, синдроме Криглера-Найяра).

Повышение прямого билирубина связано с уменьшением экскреции желчи в результате заболеваний печени (гепатиты или циррозы) или закупорке вне- или внутрипеченочных желчных протоков.

Желтуха является клиническим проявлением гипербилирубинемии, заключающимся в отложении желчных пигментов в коже, приводящим к желтоватой окраске кожи и слизистых.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

### ПРИМЕЧАНИЯ

- Для определения билирубина у новорожденных, разведите стандарт 1 мл дистиллированной воды. Концентрация стандарта будет больше в 5 раз, чем на этикетке. Уменьшить объем пробы (воды, стандарта, сыворотки) до 50 мкл и использовать концентрированный стандарт билирубина. При этом линейность метода удваивается (до 40 мг/дл = 686 ммоль/л).
- Целесообразно ополоснуть флаконы с Реагентом В маленьким объемом приготовленной смеси для того, чтобы полностью смыть реагент В и избежать потерь.
- Данные реагенты могут использоваться в различных автоматических анализаторах. Адаптации доступны по требованию.
- Использование водного стандарта, особенно в некоторых анализаторах, может вызывать отклонения калибровочного графика, в этом случае рекомендуется использовать для калибровки стандарт на основе сыворотки (Сыворотка-Калибратор код 18011 и 18044).

### БИБЛИОГРАФИЯ

- Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
- Zoppi F, Peracino A, Fenili D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giorn It Chim CI 1976; 1:343-359.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACCPress, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCPress, 2001.