

Bilirubin Direct

DPD. Colorimetric



Penentuan kuantitatif bilirubin direct

IVD

Simpan pada suhu 2-8 °C

PRINSIP METODE

Bilirubin direct (terkonjugasi) berpasangan dengan reagen diazo asam sulfamat untuk membentuk azobilirubin. Intensitas warna yang terbentuk adalah sebanding dengan konsentrasi bilirubin dalam sampel yang diuji. Peningkatan serapan pada 546 nm berbanding lurus dengan garis lurus konsentrasi bilirubin.

SIGNIFIKANSI KLINIS

Bilirubin disebabkan oleh degradasi hemoglobin dan ada dalam dua bentuk. Bilirubin tak terkonjugasi diangkut ke hati dalam keadaan terikat oleh albumin di mana ia menjadi terkonjugasi (direct) dengan asam glukuronat dan diekskresikan. Hiperbilirubinemia adalah hasil dari peningkatan bilirubin dalam plasma. Kemungkinan penyebab:

Bilirubin total: Meningkatkan hemolisis, genetik, penyakit kuning neonatal, tidak efektif eritropoiesis dan adanya obat-obatan.

Bilirubin direct: kolestasis hati, genetik, kerusakan hepatoseluler. Diagnosis klinis tidak boleh dibuat berdasarkan hasil tes tunggal; itu harus mengintegrasikan data klinis dan laboratorium lainnya.

REAGEN

R1	Sulfamic acid	100 mM
R2	2,4-DPD Hydrochloric acid (HCl)	0,5 mM 0,3 M

TINDAKAN PENCEGAHAN

R1: H314 - Iritasi atau korosi kulit. / R2: H290 - Korosif terhadap logam. H335 - Dapat menyebabkan iritasi pernafasan. H314 - Iritasi atau korosi kulit.

R2: mengandung HCl dan 2,4-DPD.

Ikuti saran keselamatan yang diberikan dalam MSDS dan label produk.

PERSIAPAN

Reagen disediakan dalam format siap pakai.

PENYIMPANAN DAN STABILITAS

Reagen stabil hingga tanggal kadaluarsa yang tertera pada label bila disimpan di 2-8°C, terlindungi dari cahaya dan kontaminasi dicegah selama proses berlangsung menggunakan. Jangan gunakan reagen melebihi tanggal kedaluarsa.

TANDA-TANDA KERUSAKAN REAGEN:

- Hadir partikel dan keruh.

PERALATAN TAMBAHAN

- SPIN 800 Autoanalyzer.
- Kuvet yang cocok dengan 1,0 cm light path.
- Peralatan laboratorium umum.

SAMPEL

Serum atau plasma, bebas dari hemolisis. Lindungi sampel dari cahaya. Stabilitas sampel: 4 hari pada suhu 2-8°C atau 2 bulan pada -20°C.

PROSEDUR

- Kondisi pengujian:
Panjang gelombang:..... 546nm (530-580)
Kuvet.....1cm light path
Suhu.....37°C

- Sesuaikan instrumen ke nol dengan air destilasi.

- Pipet ke dalam kuvet:

	Calibrator	Sample
R1 (µL)	240	240
Calibrator (µL)	15	-
Sample (µL)	-	15

- Campur dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C.

- Baca absorbansi (A1) sampel dan kalibrator.

- Tambahkan:

	Calibrator	Sample
R2 (µL)	60	60

- Campur dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C.

- Baca absorbansi (A2) sampel dan kalibrator terhadap blank.
- Hitung peningkatan absorbansi: $\Delta A = A2 - A1$.

KALKULASI:

- Dengan kalibrator:
$$\frac{(\Delta A) \text{ Sample}}{(\Delta A) \text{ Calibrator}} \times \text{Calibrator conc.} = \text{mg/dL of bilirubin dalam sampel}$$
- Dengan Faktor: $(\Delta A) \text{ Sampel} \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirubin dalam sampel}$

$$*\text{Faktor: } \frac{\text{Calibrator concentration}}{(\Delta A) \text{ Calibrator}}$$

Faktor konversi: $\text{mg/dL} \times 17,1 = \mu\text{mol/L}$.

KUALITAS KONTROL

Serum kontrol direkomendasikan untuk memantau kinerja prosedur pengujian: SPINTROL H Normal dan Patologis (Ref. 1002120 dan 1002210). Jika kontrol nilai ditemukan di luar kisaran yang ditentukan, periksa instrumen, reagen dan kalibrator untuk masalah.

Setiap laboratorium harus menetapkan skema Kontrol Kualitas dan tindakan korektifnya sendiri jika pengendalian tidak memenuhi toleransi yang dapat diterima.

NILAI REFERENSI

Bilirubin direct 0 – 0,2 mg/dL (0 – 3,42 µmol/L)

Nilai-nilai ini bertujuan untuk orientasi; setiap laboratorium harus menetapkan rentang referensi sendiri.

KARAKTERISTIK KINERJA

- Rentang pengukuran:** Dari batas deteksi 0,03 mg/dL hingga batas linieritas 9 mg/dL. Jika hasil yang diperoleh lebih besar dari batas linieritas, encerkan sampel 1/2 dengan NaCl 9 g/L dan kalikan hasilnya dengan 2.

- Presisi:**

	Inter assay (n= 40)		Intra assay (n=80)	
Mean (mg/dL)	0.7458	2.444	0.7458	2.444
SD	0.05868	0.0550	0.0276	0.024
CV (%)	7.9	2.2	3.7	1.0

- Sensitivitas:** 1 mg/dL = 0,040 Abs. unit

- Akurasi:** Hasil yang diperoleh dengan menggunakan reagen SEIDIA (y) tidak menunjukkan perbedaan sistematis bila dibandingkan dengan reagen komersial lainnya (x) pada Penganalisis SPIN XS. Hasil yang diperoleh dengan menggunakan 53 sampel berkisar antara 0,06 a 9 mg/dL (1,02 hingga 153,9 µmol/L) adalah:

Koefisien korelasi (r): 0,9986

Persamaan regresi: $y = 1,0056x - 0,1046$

Hasil karakteristik kinerja bergantung pada alat analisis yang digunakan.

INTERFERENSI

Gangguan dari hemolisis, lipemia dan asam askorbat dievaluasi untuk metode bilirubin direct pada alat analisa SPIN XS. Dua konsentrasi bilirubin direct dievaluasi. Tidak ada gangguan yang diamati untuk lipemia (Intralipid) hingga 350 mg/dL dan asam askorbat hingga 40 mg/L. Hemolisis menyebabkan penurunan secara langsung nilai bilirubin, oleh karena itu sampel hemolitik harus dibuang.

Daftar obat-obatan dan zat lain yang mengganggu bilirubin telah dilaporkan oleh Young et. al ^{4,5}.

CATATAN

SEIDIA memiliki lembar instruksi untuk beberapa penganalisis otomatis. Instruksi untuk banyak di antaranya tersedia berdasarkan permintaan.

BIBLIOGRAFI

- David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307–328.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966; Acta 13: 61-170.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

KEMASAN

Ref. 1E0101	Cont.	R1: 3 x 40 mL, R2: 1 x 30 mL
Ref. 9E0101		R1: 2 x 50 mL, R2: 2 x 12.5 mL
Ref. 13E0101		R1: 2 x 60 mL, R2: 2 x 15 mL