

REF 10207-4 4 x 29 мл / 8 мл

ОБЩИЙ БИЛИРУБИН (TBIL)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 29 мл реагента R1 и 8 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

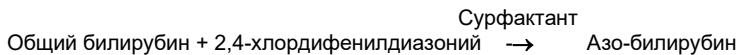
Реагент TIBL EasyRA предназначен для количественного определения общего билирубина в человеческой сыворотке или плазме взрослых с помощью биохимического анализатора MEDICA «EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer». Показатели содержания билирубина используются для диагностирования и лечения заболеваний печени, гемолитических, гематологических и метаболических расстройств, включая гепатит и закупорки протоков желчного пузыря. Только для диагностического применения *in vitro*. Только для профессионального применения.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Билирубин – это пигмент, образующийся из гемоглобина и присутствующий в сыворотке крови в результате разрушения эритроцитов. Повышенный уровень билирубина может быть результатом гемолиза, заболеваний печени или желчевыводящих путей. Существуют две формы билирубина; несвязанный (непрямой) и связанный (прямой). Несвязанный билирубин транспортируется в печень, где он связывается с альбумином и становится конъюгированным (прямым) с глюкуроновой кислотой, которая в последствии экскретируется. Несвязанный билирубин нерастворим в воде, для его растворения необходим спирт или другие растворители. Анализы, в которых используются подобные растворители, позволяют оценить общий уровень билирубина. Моно- и диглюкуроновые конъюгаты билирубина являются водорастворимыми, анализы этих типов позволяют оценить уровень прямого билирубина. Традиционные методы включают реакцию билирубина с диазореагентом (например, с солью 2,4-дихлорфенилдиазония) до образования окрашенного соединения азо-билирубин. Для ускорения реакции и образования соединения азо-билирубин добавляются различные добавки, такие как этанол¹, кофеин² и DMSO³. Также включалось добавление сурфактантов в качестве растворителей⁴.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Этот метод реакции конечной точки оценивает общий билирубин (прямой и непрямой), связывающийся с солью 2,4-дихлорфенилдиазония в присутствии сурфактанта до образования азо-билирубина.



Увеличение оптической плотности данного комплекса, измеряемой в области 550 нм, прямо пропорционально концентрации общего билирубина в образце.

РЕАГЕНТЫ

Реагент TBIL (R1):

| | |
|---------------------------|-------------|
| NaCl | 154 ммоль/л |
| HCL | 190 ммоль/л |
| Сурфактанты и консерванты | |

Реагент TBIL (R2):

| | |
|---------------------------------|-------------|
| HCL | 417 ммоль/л |
| 2,4-дихлорфенилдиазониевая соль | 5 ммоль/л |

Сурфактант

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. Реагенты (R1 и R2) являются кислыми растворами. НЕ вдыхать и НЕ глотать, избегать контакта с кожей и глазами. В случае контакта с глазами, немедленно промойте большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью. В случае контакта с кожей немедленно промойте водой в течение 10 минут. При случайном проглатывании немедленно обратитесь за медицинской помощью. Обратитесь к Спецификации по Безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые кюветы.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2—8° С. Реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов биохимического анализатора EasyRA (Medica EasyRA) в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент, если он мутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ

Следует использовать прозрачную сыворотку или плазму без признаков гемолиза. Образцы не должны подвергаться действию прямого солнечного и искусственного света в силу нестабильности прямого (связанного) билирубина⁵. Анализ должен быть проведен в течение 2 часов после взятия образца, так как содержащийся в нем билирубин нестабилен. Если анализ образцов не удастся провести в указанный срок, хранить их можно до 3 дней при температуре 2—8° С⁶. Образцы также можно хранить до 3 месяцев при температуре -70° С. Для сбора плазмы могут быть использованы пробирки с литий-гепарином.

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Контейнер для реагента Medica TBIL, REF 10207

Необходимые дополнительные материалы

Medica EasyCal Chemistry, REF 10651

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 или

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Удалите колпачок и поместите реактив в отделение для реагентов биохимического анализатора EasyRA, расположенное в охлаждаемой зоне для реагентов. Открытый реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов биохимического анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента (максимум 28 дней). Или, если реагент извлечен из анализатора, он стабилен при хранении в холодильной камере при температуре 2—8° С (закрытый колпачком) после первого удаления колпачка.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования. Используйте отдельные чистые тампоны или одноразовые пипетки для R1 и R2.

Калибровка

Для калибровки анализа рекомендуется Medica EasyCal Chemistry (REF 10651). Диапазон калибровки (максимум 7 дней) запрограммирован на чипе RFID на контейнере реактивов. Во всех случаях изменения номера партии реактивов или наличия сдвигов в значениях контроля качества требуется повторная калибровка.

Контроль Качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно при выполнении анализа образцов, взятых у пациента, и при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа биохимический анализатор Medica EasyRA вычисляет концентрацию общего билирубина из отношения скорректированного неизвестного поглощения образца к скорректированному поглощению калибратора, умноженного на значение калибратора.

$$TBIL \text{ (мг/дл)} = \frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{600}}) - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{600}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{600}})_{SBik} - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{600}})_{SBik}] \times dF}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{600}}) - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{600}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{600}})_{SBik} - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{600}})_{SBik}] \times dF} \times \text{Значение калибратора}$$

Где A_U и A_C – значения поглощения неизвестного образца и калибратора, соответственно; A_{RBik} – поглощение пустого реагента; S_{Bik} – пустой образец; и «значение калибратора» – концентрация общего билирубина в калибраторе (мг/дл). Учитывая, что объем химической реакции изменяется при более позднем добавлении реагента R2, в расчет включен поправочный коэффициент разведения (dF).

Пустой образец корректируется с помощью разницы факторов растворения, вводимых с помощью R1 против (R1 и R2) с использованием:

$$df = \frac{\text{Объем Реаг}_1 + \text{Раств. Объем} + \text{Образца Объем}}{\text{Общий объем}}$$

Ожидаемые Значения¹⁰

Референсный спектр значений TBIL в сыворотке следующий:

Взрослые: 0,2—1,0 мг/дл

Эти значения предлагаются в качестве нормы. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и локальными популяциями, в каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон нормальных значений.

Ограничения Процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Могут использоваться только негемолизированные образцы сыворотки или плазмы. Данный анализ не оценивался у новорожденных.

Биохимический анализатор EasyRA отмечает каждый результат выше 20 мг/дл как высокая линейность (Linearity High «LH»). Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Данная процедура позволяет эффективно увеличить регистрируемый диапазон анализа TBIL до 40 мг/дл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁹

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет от 0,08 до 20 мг/дл. Растянутый диапазон составляет 0,08-40 мг/дл, если используется половина объема образца сыворотки (раствор 1:1).

Погрешность/Корреляция (CLSI, EP9-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении реагента Medica для TBIL (y) в биохимическом анализаторе EasyRA с характеристиками сходного реагента для TBIL (x) в анализаторе Roche COBAS MIRA*. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в биохимическом анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных в анализаторе Roche COBAS MIRA.

| | | | |
|------------------------|--------|------------------------------|---------------------------|
| Количество образцов | 65 | Размах выборки | от 0,05 до 19,8 мг/дл |
| Угловой коэффициент | 1,0043 | Отрезок, отсекаемый на оси y | -0,1966 |
| Коэффициент корреляции | 0,9957 | Уравнение регрессии: | $Y = 1,0043 * X - 0,1966$ |

* Cobas Mira является зарегистрированной торговой маркой Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении парных образцов сыворотки (x) и плазмы (y) с использованием реагента TBIL Medica Reagent в биохимическом анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в образцах плазме против среднего от двух повторных значений в образцах сыворотки.

| | | | |
|------------------------|--------|------------------------------|---------------------------|
| Количество образцов | 62 | Размах выборки | от 0,17 до 16,78 мг/дл |
| Угловой коэффициент | 0,9952 | Отрезок, отсекаемый на оси y | -0,0079 |
| Коэффициент корреляции | 0,9998 | Уравнение регрессии | $Y = 0,9952 * X - 0,0079$ |

Расхождение результатов (CLSI, EP5-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. Из этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

Погрешность внутри ряда измерений:

| Уровень QC мг/дл | СО внутри ряда измерений мг/дл | КВ внутри ряда измерений % |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| 3,36 | 0,02 | 0,67 |
| 1,66 | 0,02 | 1,13 |
| 0,44 | 0,01 | 2,64 |

Общее расхождение результатов:

| Уровень QC мг/дл | CO общего расхождения результатов: мг/дл | KB общего расхождения результатов: % |
|---------------------|---|---|
| 3,36 | 0,05 | 1,35 |
| 1,66 | 0,03 | 2,09 |
| 0,44 | 0,02 | 3,81 |

Линейность (CLSI, EP6-A)⁹

Линейные от 0,08 до 20 мг/дл, основываясь на линейной регрессии $Y = 0,98 \cdot X + 0,0921$.

| | | |
|---------------------------------------|------------|----------------|
| Граница пустого образца (LOB): | 0,04 мг/дл | (CLSI, EP17-A) |
| Предел обнаружения (LOD): | 0,06 мг/дл | (CLSI, EP17-A) |
| Предел количественного анализа (LoQ): | 0,05 мг/дл | (CLSI, EP17-A) |

Вещества, создающие интерференцию (CLSI, EP7-A)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Значительная интерференция при уровне гемоглобина выше 125 мг/дл.

Триглицериды могут вызывать значительную интерференцию. Не используйте липемические пробы.

Индоцианин зелёный вызывает значительную положительную интерференцию.

Пробы, содержащие повышенные уровни иммуноглобулина M (IgM), или пробы, взятые у пациентов с лимфоплазмочитарной лимфомой, могут давать ненадёжные результаты.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают интерференцию при клинических лабораторных исследованиях⁷.

Ссылки

1. Malloy H.T. and Evelyn, K.A., *The Determination of Bilirubin with the Photoelectrocolorimeter.*, J.Biol. Chem 119:481-490 (1973).
2. Jendrassik, L and Grof.P. *Vereinfachte, Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blubilirubins*, Bichem. A. 297: 81-89 (1938).
3. Walters, M. and Gerarde, H. *An Ultramicromethod for the Determination of Conjugated and Total Bilirubin in Serum or Plasma*. Microchem. J. 15:231-243 (1970).
4. Winsten, J. and Cehelyk, B., *A Rapid Micro Diazo Technique for Measuring Total Bilirubin.*, Clin. Chem. Acta 25: 441-446 (1969).
5. Henry, R.J. *Clinical Chemistry, Principles and Technics*, Hagerstown, MD: Harper and Row, Publishers 1974:1058.
6. Tietz N.W. *Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, 1986: p1388.
7. Young D.S. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young D.S. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.
9. Неопубликованные данные Medica.
10. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
11. NCCLS EP9-P
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices* (NCCLS) Document EP5-T2 (ISBN 1-56238-145-8), 1992.

Параметры анализа EasyRA (TBIL)

| | |
|---|----------------------------|
| Основная длина волны (нм) | 550 |
| Вторичная длина волны (нм) | 600 |
| Тип реакции | Конечная точка (2) |
| Направление реакции | Увеличение |
| Пустой реагент | Да (при каждой калибровке) |
| Пустой образец | Да |
| Время реакции | 5,6 мин |
| Периодичность калибровок (максимальная) | 7 дней |
| Автономная стабильность реагента | 28 дней |

Сыворотка/плазма

| | |
|--|--|
| Объем образца (мкл) | 8,0 |
| Объем растворителя 1 (мкл) | 15 |
| Объем растворителя 2 (мкл) | 15 |
| Объем реактива R1 (мкл) | 150 |
| Объем реактива R2 (мкл) | 38 |
| Разряды десятичной дроби (по умолчанию) | 2 |
| Единицы (значения по умолчанию) | мг/дл |
| Фактор разведения | 1:1 (для расширения спектра измерения) |
| Линейность | от 0,08 до 20 мг/дл |



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, Massachusetts 01730-1413 USA



Emergo Europe, Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem, The Netherlands