

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 замутнен 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	КВ 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 М (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 NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, 1986: p1388.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *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, MA 01730-1413 USA

EC	REP
----	-----

 Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands