

REF 10212-4 4 x 29 мл / 8 мл

ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН (ПБИЛ)

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент ПБИЛ EasyRA предназначен для количественного определения прямого билирубина (ПБИЛ) в человеческой сыворотке и плазме 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. Стандартный метод, описанный Ehrlich¹ заключается в реакции билирубина с диазо-реагентом (например, диазотированной сульфалиловой кислотой) с формированием окрашенного азо-билирубина. Данный анализ позволяет измерять прямой (связанный) билирубин путем его реакции с солью диазония в присутствии сульфаминовой кислоты с формированием азо-билирубина.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Конечная точка реакции основана на применении 2,4-дихлорофенилдиазониевой кислоты в качестве диазо-реагента.

Прямой билирубин + 2,4-дихлорофенилдиазоний → азобилирубиновая соль

Прямой билирубин (связанный) связывается с диазо-реагентом с формированием азобилирубина. Повышение оптической плотности в области 550 нм пропорционально концентрации прямого билирубина.

РЕАГЕНТЫ

Реагент ПБИЛ (R1)

ЭДТА-Na ₂	0,1 ммоль/л
NaCl	154 ммоль/л
Сульфаминовая кислота	100 ммоль/л

Реагент ПБИЛ (R2)

2,4-дихлорофенилдиазониевая соль	5 ммоль/л
HCL	0,9 моль/л
ЭДТА-Na ₂	0,13 ммоль/л

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. 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 пробирки.

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 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) билирубина². 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° С³. 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 ПБИЛ, REF 10212

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 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 30 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 EasyRA. 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 30 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 EasyRA рассчитывает концентрацию прямого билирубина из отношения скорректированной оптической плотности (вычитая оптическую плотность пустого реагента и пустого образца) образца к скорректированной оптической плотности калибратора (после вычитания оптической плотности пустого реагента и пустого образца), умноженного на концентрацию калибратора.

$$\text{ПБИЛ (мг/дл)} = \frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{700}}) - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{700}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{700}})_{SBik} - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{700}})_{SBik}] \times dF}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{700}}) - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{700}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{700}})_{SBik} - (A_{RBik_{550}} - A_{RBik_{700}})_{SBik}] \times dF} \times \text{значение калибратора}$$

Где A_U – искомая оптическая плотность, A_{RBik} – оптическая плотность пустого реагента, относящегося к анализируемому образцу, $SBik$ – это оптическая плотность пустого образца, относящегося к анализируемому образцу. Все значения оптической плотности с пометкой «С» относятся к калибратору. В силу отсроченного добавления реагента R2 в расчет включен поправочный коэффициент разведения (dF).

Ожидаемые Значения³

Референсный спектр значений ПБИЛ в сыворотке следующий:

Взрослые: 0,0-0,20 мг/дл (0,0-3,4 мкмоль/л)

Эти значения предлагаются в качестве нормы. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и местным населением в каждой лаборатории рекомендуется провести установление собственного диапазона ожидаемых значений.

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

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

Биохимический анализатор EasyRA отмечает все результаты свыше 10 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 увеличить регистрируемый диапазон анализа ПБИЛ до 20 мг/дл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁴

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет 0,06-10 мг/дл. Растянутый диапазон составляет 0,06-20 г/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 ПБИЛ (y) в биохимическом анализаторе EasyRA (при использовании основной длиной волны 550 нм и вторичной длиной волны 700 нм) с характеристиками сходного реагента ПБИЛ (x) в биохимическом анализаторе EasyRA (при использовании основной длиной волны 550 нм). Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в биохимическом анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных в биохимическом анализаторе EasyRA.

Количество образцов	53	Размах выборки	от 0,06 до 9,50 мг/дл
Угловой коэффициент	1,0376	Отрезок, отсекаемый на оси y	-0,0456
Коэффициент корреляции	0,9986	Уравнение регрессии	$Y = 1,0376 * X - 0,0456$

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении парных образцов сыворотки (x) и плазмы (y) с использованием реагента для ПБИЛ 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	52	Размах выборки	от 0,07 до 9,95 мг/дл
Угловой коэффициент	1,0064	Отрезок, отсекаемый на оси y	0,01
Коэффициент корреляции	0,9992	Уравнение регрессии	$Y = 1,00064 * X - 0,01$

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 %
2,47	0,04	1,59
1,31	0,02	1,83
0,20	0,01	5,49

Общее расхождение результатов:

Уровень QC мг/дл	СО общего расхождения результатов: мг/дл	КВ общего расхождения результатов: %
2,47	0,05	2,09
1,31	0,02	1,87
0,20	0,01	6,93

Линейность (CLSI, EP6-A)

Линейные от 0,06 до 10 мг/дл, основываясь на линейной регрессии $Y = 0,98 * X + 0,0365$.

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».

Гемоглобин вызывает значительную отрицательную интерференцию. Могут использоваться **только** негемолизованные образцы сыворотки или плазмы.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для концентраций триглицеридов до 460 мг/дл (с использованием Intralipid®). Medica не рекомендует использовать визуально замутненные образцы. 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.

**Intralipid* является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях^{5, 6}.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ehrlich, P., *Sulfadiazobenzol, ein Reagens auf Bilirubin*. Centr. Klin. Med. 4; 721-723 (1883).
2. Gordon, E.R., *The Conjugate of Bilirubin*. *Hepatology* (NY) 2: 19 (1975).
3. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders CO., Philadelphia (1994).
4. Неопубликованные данные Medica.
5. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests 4th ed*. Washington, DC: AACC Press; 1995.
6. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.

Параметры анализа EasyRA (ПБИЛ)

Основная длина волны (нм)	550
Вторичная длина волны (нм)	700
Тип реакции	Конечная точка (2)
Направление реакции	Увеличение
Пустой реагент	Да (при каждой калибровке)
Пустой Образец	Да
Время реакции	4,5 мин
Периодичность калибровок (максимальная)	28 дней
Автономная стабильность реагента	30 дней

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	10,0
Объем растворителя 1 (мкл)	10
Объем растворителя 2 (мкл)	10
Объем реактива R1 (мкл)	160
Объем реактива R2 (мкл)	40
Разряды десятичной дроби (по умолчанию)	2
Единицы (значения по умолчанию)	мг/дл
Фактор разведения	1:1 (для расширения спектра измерения)
Линейность	от 0,06 до 10 мг/дл