

Инструкция и адаптационная методика по применению

Набора реагентов для определения биохимических параметров:

Билирубин общий ДФД

Клиническое значение:

Билирубин (пигмент желтого цвета) является продуктом распада гемоглобина. Для диагностических целей билирубин разделяют на две фракции: связанный и свободный. В гепатоцидах билирубин ферментативно связан с остатками глюкуроновой кислоты. Эта форма называется прямой или связанной. Немодифицированный билирубин связывается с альбумином и называется свободным или непрямой. Непрямой билирубин рассчитывается как разность между общим и прямым билирубином.

Измерение сывороточного билирубина широко используется в качестве скрининг-теста при диагностике состояния печени. Гипербилирубинемия характерна для механической и гемолитической желтухи, синдромов Дубина-Джонсона, Гильберта, Криглера-Найра, поражений желчевыводящих путей.

Диагноз не должен ставиться на основании одного теста. Необходимо учитывать результаты других исследований и клиническую картину.

Принцип метода:

В присутствии ПАВ билирубин (свободный и связанный) в кислой среде вступает в реакцию диазотирования с 2,4-дихлорфенилдиазониевой солью, что приводит к образованию окрашенного комплекса, концентрация которого прямо пропорциональна концентрации общего билирубина и определяется фотометрически.

Набор предназначен для использования на ручных, полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Состав наборов*:

Наименование	Реагент 1	Реагент 2	Калибратор билирубина
Состав	ПАВ; Соляная кислота pH < 2,0	2,4-дихлорфенилдиазоний хлорид; Соляная кислота	На основе челявоческой сыворотки крови. Концентрация указана на этикетке.
Варианты объемов	96 мл	24 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
	120 мл	30 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
	240 мл	60 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставляться с контрольным материалом.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при температуре от 2°C до 8°C.

Реагент 1 и Реагент 2 готовы к применению. Перед применением аккуратно перемешать, но не взбалтывать. После вскрытия флаконов реагенты стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение всего срока

годности, указанного на этикетке. Реагент 2 чувствителен к свету, поэтому обязательно должен храниться в отсутствие света! Избегать загрязнений!

Для приготовления Калибратора необходимо добавить во флакон 1 мл дистиллированной воды. Аккуратно перемешать до полного растворения. Использовать не ранее, чем через 10 минут после растворения. Стабильность Калибратора после растворения – 1 месяц при температуре минус 20°C. Не допускать повторного замораживания-размораживания.

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента мутности или частиц;
- не прохождение контроля качества.

Меры предосторожности:

Реагенты, входящие в состав набора, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не принимать внутрь.

При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНиП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНиП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы, их стабильность и подготовка к анализу:

Сыворотка или ЭДТА/гепарин-плазма крови без следов гемолиза. Эритроциты следует максимально быстро отделить от сыворотки (не позднее двух часов). Липемические образцы могут давать псевдозаниженные результаты по билирубину, поэтому исследование следует проводить натощак.

Поскольку билирубин подвержен фотоокислению, образцы следует защищать от попадания прямого света, как от солнечного, так и от искусственных источников света. Образцы хранить в темноте и при температуре от 2°C до 8°C не более 3-х дней.

Рекомендуется проведение анализов на свежем биологическом материале.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Ход анализа (ручная методика):

Условия проведения анализа:

- длина волны – 546 нм (530-580 нм);
- длина оптического пути – 1 см;
- температура - 37°C;

Реагенты довести до температуры 37°C.

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

	Макрометод		Полумикрометод	
	Калибратор	Образец	Калибратор	Образец
Внести в кюветы				
Реагент 1, мл	0,800	0,800	0,400	0,400
Калибратор, мл	0,040	-	0,020	-
Образец, мл	-	0,040	-	0,020
Аккуратно перемешать и инкубировать 5 мин при температуре 37°C, измерить оптическую плотность A ₁ для калибратора и образца. Затем добавить:				
Реагент 2, мл	0,200	0,200	0,100	0,100
Аккуратно перемешать и инкубировать точно 5 мин при температуре 37°C, измерить оптическую плотность A ₂ для калибратора и образца. Вычислить ΔA = A ₂ – A ₁ для калибратора и образца.				

Результаты:

Концентрацию общего билирубина в сыворотке (C_{обр}) рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{обр}} (\text{мкмоль/л}) = \frac{\Delta A_{\text{обр}}}{\Delta A_{\text{кал}}} \times C_{\text{кал}}$$

Коэффициент пересчета: мкмоль/л = мг/дл x 17,1.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 1,71 мкмоль/л.

Линейность: 513 мкмоль/л

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	Среднее (мкмоль/л)	SD	CV, %	n
Среднее (мкмоль/л)	27,1	94,7	25,3	91,1
SD	0,873	2,197	0,906	2,706
CV, %	3,22	2,32	3,58	2,97
n	10	10	10	10

Корреляция:

20 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения общего билирубина (производства «Диагенс») и другим набором реагентов, внесенным в Реестр медицинской техники и изделий медицинского назначения Республики Беларусь.

Коэффициент корреляции: 0,964.

*Данные получены при использовании анализатора Mindray серии BS, для других анализаторов они могут отличаться.

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

Рекомендуем применять для контроля качества контрольные сыворотки производства Randox (Великобритания), Spinreact (Испания), Cormay (Польша).

Референсные значения:

Сыворотка:	мкмоль/л
Взрослые	3,4 – 20,5

Интерференция:

Гемоглобин до 0,25 г/дл, аскорбиновая кислота до 400 мг/л и триглицериды до 200 мг/дл не влияют на результаты измерений.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращайтесь по телефонам: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10