



Инструкция и адаптационная методика по применению Набора реагентов для определения биохимических параметров: Билирубин прямой ДФД

Клиническое значение:

Билирубин (пигмент желтого цвета) является продуктом распада гемоглобина. Для диагностических целей билирубин разделяют на две фракции: связанный и свободный. В гепатоцитах 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-Наяра, поражений желчевыводящих путей.

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

Принцип метода:

Прямой билирубин соединяется с диазореагентом в присутствии сульфаминовой кислоты с образованием азобилирубина, что приводит к образованию окрашенного комплекса, концентрация которого прямо пропорциональна концентрации прямого билирубина и определяется фотометрически.

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

Состав наборов*:

Наименование	Реагент 1	Реагент 2
Состав	Сульфаминовая кислота	2,4-дихлорфенил-диазоний хлорид Соляная кислота
Варианты объемов	96 мл	24 мл
	120 мл	30 мл
	240 мл	60 мл

* - 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!

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.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с компонентами набора следует пользоваться перчатками медицинскими одноразовыми (СТБ EN 455-1-2006), халатами медицинскими (ГОСТ 24760-81, ГОСТ 25194-82). В случае его попадания реагентов на кожу или слизистые промыть большим количеством проточной воды.

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 псевдозниженные 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 следует 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.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 546 нм (530-580 нм) и длиной оптического пути 1 см, с термостатируемым кюветным отделением;
- дозаторы с наконечниками переменного объема от 0,03 мл до 1 мл;
- секундомер.

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
Реагент 1, мл	0,800	0,800	0,400	0,400
Калибратор, мл	0,050	-	0,025	-
Образец, мл	-	0,050	-	0,025
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 ₁ - A ₂ для калибратора и образца.				

Результаты:

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

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

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

***Аналитические характеристики:**

Чувствительность: 0,51 мкмоль/л.

Линейность: 153,9 мкмоль/л

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
Среднее (мкмоль/л)	18,1	24,6	17,4	25,9
SD	0,572	0,627	0,519	0,694
CV, %	3,16	2,55	2,98	2,70
n	10	10	10	10

Корреляция:

Коэффициент корреляции (10 образцов): 0,973.

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

Калибратор:

В качестве калибратора рекомендуем использовать калибровочную сыворотку производства Randox (Великобритания), Spinreact (Испания), Cormay (Польша).

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: <3,42 мкмоль/л

Интерференция:

Гемоглобин до 0,25 г/дл, аскорбиновая кислота до 400 мг/л и триглицериды до 350 мг/дл не влияют на результаты измерений.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

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