



Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Общий билирубин»

Клиническое значение:

Билирубин – продукт распада гемоглобина. Причины гипербилирунемии – повышение концентрации билирубина: повреждение печеночных клеток, обтурация желчных протоков, гемолитические болезни, неонатальная желтуха.

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

Принцип метода:

Метод основан на реакции диазотирования общего билирубина с сульфаниловой кислотой. Добавление ДМСО в реакционную смесь растворяет непрямой билирубин, после чего он тоже вступает в реакцию. В результате реакции образуется окрашенный комплекс, концентрация которого прямо пропорционально концентрации общего билирубина в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 555 нм.

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

Состав набора*:

Реагент 1	Реагент 2	Калибратор билирубина
Сульфаниловая кислота Соляная кислота Диметилсульфоксид	Нитрит натрия	Лиофилизированная сыворотка крови. Концентрация указана на этикетке.
140 мл	5 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
150 мл	5 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
210 мл	7 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
450 мл	15 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
500 мл	17 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 2-8°C (18 месяцев от даты производства).

Реагент 1 и Реагент 2 готовы к применению. После вскрытия флакона стабильны при 2°C-8°C до окончания срока годности, указанного на этикетке. Хранить в темном месте. Избегать загрязнения.

Для приготовления Рабочего реагента (для автоматических анализаторов) за 30 минут до анализа смешивают Реагент 1 и Реагент 2 в соотношении 30:1. Рабочий реагент стабилен 24 часа при комнатной

температуре и 48 часов при 2°C-8°C. Для приготовления Калибратора билирубина во флакон добавляют 1 мл дистиллированной воды. Приготовленный калибратор стабилен 2 месяца при минус 20°C.

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента мутности или частиц;
- появление окраски Реагента 2.

Меры предосторожности:

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

Калибратор представляет собой лиофилизированную сыворотку человека, которая протестирована на отсутствие HBsAg, HCV и антител к HIV (1/2). Однако при работе с ним необходимо обращаться как с потенциально опасным веществом.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. 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 и их стабильность:

Негемолизированная сыворотка или плазма крови. Беречь образцы от воздействия прямых солнечных лучей.

Образцы стабильны 4 дня при температуре от 2°C до 8°C или 2 месяца при температуре минус 20°C.

Методики для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 555 нм и длиной оптического пути 1 см;
- дозаторы, позволяющие отбирать 0,05 мл, 0,1 мл, 1,5 мл, 0,025 мл, 0,75 мл;
- одноразовые кюветы;
- одноразовые наконечники для дозаторов;
- секундомер.

Ход анализа (ручная методика):

Условия проведения анализа:

- длина волны – 555 нм (530-580);
- длина оптического пути – 1 см;
- температура - от 15°C до 25°C;

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

	Макрометод		Полумикрометод	
	Бланк	Калибратор/ Образец	Бланк	Калибратор/ Образец
Внести в кюветы:				
Реагент 1, мл	1,500	1,500	0,750	0,750
Реагент 2, мл	-	0,050	-	0,025
Калибр./ Образец, мл	0,100	0,100	0,050	0,050

Перемешивают и инкубируют 5 минут при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность (А) реакционной смеси с образцом и калибратором против бланка.

При исследовании крови новорожденных объем пробы составляет 0,05 мл (для макрометода) или 0,025 мл (для полумикрометода). Полученный результат умножают на 2.

Результаты:

Концентрацию общего билирубина в образце (С обр) рассчитывают по формуле:

По калибратору:

$$C \text{ обр (мкмоль/л)} = \frac{\text{Аобр} - \text{Абланк}}{\text{Акал} - \text{Абланк кал}} \times C \text{ кал,}$$

Где С кал – концентрация общего билирубина в калибраторе (мкмоль/л).

По фактору:

$$C \text{ обр (мкмоль/л)} = (\text{Аобр} - \text{Абланк}) \times 324,9,$$

С кал

где 324,9 – фактор; фактор = -----

Акал - Абланк кал

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

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), Corma (Польша).

Референсные значения: 5-21 мкмоль/л.

Интерференция: гемолиз.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 1,7 мкмоль/л.

Линейность: до 340 мкмоль/л.

Если концентрация общего билирубина в образце превышает 340 мкмоль/л, то образец необходимо разбавить раствором хлорида натрия (9 г/л) в соотношении 1:1, а полученный результат умножить на 2.

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	27,8	87,4	26,4	90,1
Среднее (мкмоль/л)				
SD	1,056	3,496	1,030	3,874
CV	3,8	4,0	3,9	4,3
n	10	10	10	10

Корреляция:

50 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения общего билирубина (производства «Диагенс») и другим набором реагентов, разрешенным к применению Министерством здравоохранения РБ.

Кэффициент корреляции: 0,982.

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

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

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