



СР	9094/2009
	09.09.2011

Погоджено
Директор департаменту
регуляторної політики у сфері
обігу лікарських засобів
та продукції у системі МОЗ України
Ю.Б.Константинов
03 грудня 2009 р.

Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості загального білірубину в сироватці або плазмі крові БІЛРУБІН загальний «СпЛ»

IN VITRO

P1	3 x 100 мл
P2	1 x 6 мл

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Загальний білірубін (прямий та непрямий) перетворюється у кольоровий комплекс азобілірубину під впливом діазотованої сульфанілової кислоти у кислому середовищі. З двох фракцій білірубину безпосередньо у водному розчині приймає участь тільки прямий білірубін. В той час як непрямий білірубін потрібно розчинити з диметилсульфоксидом (ДМСО).

Інтенсивність кольору пропорційна концентрації білірубину у зразку.

Клінічне значення

Білірубін представляє собою продукт розпаду гемоглобіну, який транспортується від селезінки до печінки та екскретується в жовчні протоки. Гіпербілірубінемія є результатом збільшення концентрації білірубину у плазмі.

Причини гіпербілірубінемії:

Загальний білірубін. Збільшення гемолізу, генетичні порушення, неонатальна жовтяниця, неефективний еритропоез та лікарські препарати.

Прямий білірубін. Холестаза печінки, генетичні та гепатоклітинні порушення.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 50 ммоль/л; ДМСО - 7 моль/л.
- Реагент 2.** Натрію нітрит - 29 ммоль/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.



Додаткові реагенти

Стандарт білірубину постачається окремо.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: від нижньої межі 1.71 мкмоль/л до 300 мкмоль/л. Відхилення від лінійності не перевищує 7%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 1.71 мкмоль/л.
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 7%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків (гемоліз змінює рівень білірубину).

Зразки стабільні при 2-8°C протягом 4 днів, або 2 місяців при -20° С.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 555 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:
 - довжина хвилі 555 нм (530-580 нм)
 - кювета з товщиною оптичного шару 1 см
 - температура 15-20°C
2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Холостий стандартний зразок	Стандартний зразок	Холостий дослідний зразок	Дослідний зразок
P1, мл	1.5	1.5	1.5	1.5
P2, мкл	-	50	-	50
Зразок, мкл	-	-	100	100
Стандарт, мкл	100	100	-	-

Прим. Об'єми реагентів, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора

4. Перемішати, інкубувати протягом 5 хв. при кімнатній температурі 15-25°C.
5. Виміряти оптичну щільність (E) стандарту проти холостого стандартного зразка, E дослідного зразка проти холостого дослідного зразка.

Примітки

1. Для визначення білірубину у новонароджених піпетувати 50 мкл зразка. Помножити результат на два.



2. Рекомендується в якості стандарту використовувати Білірубін загальний Калібратор СпЛ.

Розрахунок результатів

1. Зі стандартом

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація білірубіну в дослідному зразку, мг/л.

$E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$ - вміст білірубіну в стандарті.

2. З фактором

$$C_{\text{дос}} = E_{\text{дос}} \times 392$$

де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація білірубіну в дослідному зразку, мг/л.

$E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

392 - теоретичний чинник перерахунку для вираження концентрації

білірубіну в мкмоль/л.

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень загального білірубіну в сироватці або плазмі крові становить до 18.81 мкмоль/л = 11.0 мг/л

Перехід в додаткові одиниці: мг/л \times 1.71 = мкмоль/л

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» (Іспанія), контрольні сироватки «Lyoporm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Заходи безпеки

P1 їдка речовина. Уникайте вдихання, контакту зі шкірою, очами або слизовою оболонкою.

Якщо це сталося, негайно промийте їх великою кількістю води, проконсультуйтеся з лікарем.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Ознаки погіршення реagentів

- Присутність часток і помутніння.
- Поява кольору в **P2**.



БІЛРУБІН загальний «СпЛ»

ДМСО. Колориметричний

СР	9094/2009
	09.09.2011

ТОВ «СпайнЛаб», 61050, м. Харків
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення кількості
загального білірубину
в сироватці або плазмі крові
БІЛРУБІН загальний «СпЛ»

IN VITRO

Серія **5-209-1**

Дата виготовлення **05.09.2012**

Термін придатності **05.09.2013**

Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 50 ммоль/л; ДМСО - 7 ммоль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Нітрит натрію - 29 ммоль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
2. Показники правильності визначення			
2.1	Чутливість не менш, мкмоль/л	1.71	відповідає
2.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, мкмоль/л	1.71-300 ± 7 %	відповідає
2.3	Коефіцієнт варіації	± 7 %	відповідає
3. Комплектація			
3.1	P1	3 фл. х 100 мл	відповідає
3.2	P2	1 фл. х 6 мл	відповідає

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)