



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення кількості загального та прямого білірубину
в сироватці або плазмі крові
БІЛІРУБІН СпЛ

IN VITRO

P1	2 x 150 мл
P2	2 x 150 мл
P3	1 x 13.5 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 200 визначень (100 визначень загального білірубину та 100 визначень прямого білірубину) з урахуванням холостих та калібрувальних проб.

Принцип методу

Білірубін перетворюється у кольоровий комплекс азобілірубину під впливом діазотованої сульфанілової кислоти у кислому середовищі. З двох фракцій, представлених у сироватці крові, білірубін - глюкоромід і вільний білірубін, які тісно пов'язані з альбуміном, у цій реакції, безпосередньо у водному розчині, приймає участь тільки прямий білірубін, в той час як вільний білірубін потрібно розчинити з диметилсульфоксидом (ДМСО) (визначення непрямого білірубину). При визначенні непрямого білірубину визначається також і прямий, результати відповідають загальному білірубину.

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. Холестаз печінки, генетичні та гепатоклітинні порушення.

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

Склад набору

1. **Реагент 1.** Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 50 ммоль/л; ДМСО - 7 моль/л.
2. **Реагент 2.** Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 150 ммоль/л.
3. **Реагент 3.** Нітрит натрію - 29 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Додаткові реагенти

Стандарт Білірубину постачається окремо.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 1.71 - 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 1.37 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.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

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

Проведення аналізу

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

3.1. Визначення Загального Білірубіну

	Холостий стандартний зразок	Стандартний зразок	Холостий дослідний зразок	Дослідний зразок
P1, мл	1.5	1.5	1.5	1.5
P3, мкл	-	50	-	50
Зразок, мкл	-	-	100	100
Стандарт, мкл	100	100	-	-

3.2 Визначення Прямого Білірубіну

	Холостий стандартний зразок	Стандартний зразок	Холостий дослідний зразок	Дослідний зразок
P2, мл	1.5	1.5	1.5	1.5
P3, мкл	-	50	-	50
Зразок, мкл	-	-	100	100
Стандарт, мкл	100	100	-	-

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

- УВАГА!** Перемішати, інкубувати протягом рівно 5 хв. при кімнатній температурі 15-25°C.
- Виміряти оптичну щільність (E) зразка і стандарту, проти холостої проби.

Прим. 1. Для визначення білірубіну у новонароджених розведіть зразок в два рази фізіологічним розчином (1:1). Помножте результат на два.

- Рекомендується в якості стандарту використовувати Білірубін загальний Калібратор СпЛ.

Розрахунок результатів

За фактором:

$$C_{\text{дос}} = (E_{\text{досл}} - E_{\text{хол}}) \times F$$

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, мкмоль/л.
 $E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.
 $E_{\text{хол}}$ - оптична щільність холостого зразка, одиниць оптичної щільності.
 $E_{\text{ст}}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.
 $C_{\text{ст}}$ - вміст білірубіну в стандарті.
 F - теоретичний чинник перерахунку для вираження концентрації в мкмоль/л

F Загального Білірубіну - 427,

F Прямого Білірубіну - 339.

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 білірубину в сироватці або плазмі крові становить:

загальний білірубін до 18.81 мкмоль/л = 11.0 мг/л

прямий білірубін до 4.27 мкмоль/л = 2.5 мг/л

Перехід в додаткові одиниці: мг/л x 1.71 = мкмоль/л

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА», «СпЛ Контроль ПАТОЛОГІЯ» («Лабораторія Гранум», Україна); «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія) «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). 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, P2 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 (12 міс.).

Ознаки погіршення реagentів

- Присутність часток і помутніння.
- Поява кольору в **P3**.



ТОВ «Лабораторія Гранум»
61001, м. Харків,
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт

Набір реагентів для визначення кількості
загального та прямого білірубіну
в сироватці або плазмі крові
БІЛІРУБІН СпЛ

IN VITRO

Серія **25-807-1**

Дата виготовлення **2018.11.15**

Термін придатності **2019.11.15**

Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 20.5-41524713-05:2018	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 50 ммоль/л; ДМСО - 7 моль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Сульфанілова кислота - 30 ммоль/л; соляна кислота - 150 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.3	P3. Нітрит натрію - 29 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
2. Показники правильності визначення			
2.1	Чутливість не менш, мкмоль/л	1.37	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	2 фл. х 150мл	відповідає
3.2	P2	2 фл. х 150мл	відповідає
3.3	P3	1 фл. х 13.5 мл	відповідає

Набір розрахований на 200 визначень (100 визначень загального білірубіну та 100 визначень прямого білірубіну) з урахуванням холостих та калібрувальних проб.

Висновок ВТК: Набір протестован на контрольному матеріалі «Randox HUM ASY Control 2,3» (Великобританія) згідно системи контролю якості ТОВ «Лабораторія Гранум».

Термін зберігання – 12 місяців з дня виготовлення.

Відповідає вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro.