

УВАГА! ЗМІНА ІНТРУКЦІЇ



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

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Білірубін перетворюється у кольоровий комплекс азобілірубіну 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 диметілсульфоксидом (ДМСО) (визначення непрямого білірубіну). При визначенні непрямого білірубіну визначається також і прямий, результати відповідають загальному білірубіну.

Інтенсивність кольору пропорційна концентрації білірубіну 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 білірубіну у плазмі.

Причини гіпербілірубінемії: Загальний білірубін. Збільшення гемолізу, генетичні порушення, неонатальна жовтяниця, неефективний ерітропоез 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

- Реагент 1.** Сульфанілова кислота - 30 mmol/l (ммоль/л); соляна кислота - 50 mmol/l (ммоль/л); ДМСО - 7 mol/l (моль/л).
- Реагент 2.** Сульфанілова кислота - 30 mmol/l (ммоль/л); соляна кислота - 150 mmol/l (ммоль/л).
- Реагент 3.** Нітрат натрію - 29 mmol/l (ммоль/л).
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

Додаткові реагенти

Стандарт білірубіну постачається окремо. Рекомендовано використовувати СпЛ Мультикалібратор виробництва «Лабораторія Гранум» для визначення загального та прямого білірубіну, СпЛ Білірубін Калібратор для визначення загального білірубіну.

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 1.71 - 300 μmol/l (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 g/l (г/л) та помножте результат на два.
- Чутливість не менш 1.71 μmol/l (мкмоль/л).
- 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 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліpidних та гемолітичних зразків (гемоліз змінює рівень білірубіну). Захищати зразки від впливу сонячного світла.

Зразки стабільні при 2-8°C протягом 4 d (доб), або 2 mth (міс) при -20° C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 555 нм (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см (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 min (хв).
Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 555 (530-580) nm (нм)
кувета з товщиною оптичного шару 1 см (см)
температура 15-20°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрать та вносити в об'ємах, вказаных в таблиці.

3.1. Визначення Білірубіну Загального

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

3.2 Визначення Білірубіну Прямого

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

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

4. **УВАГА!** Перемішати, інкубувати протягом рівно 5 min (хв) при кімнатній температурі 15-25°C.

5. Виміряти оптичну щільність (Е) 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.

Розрахунок результатів

1. Визначте концентрацію загального та прямого білірубіну в дослідних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

2. Калібрувальний графік та фактор перерахунку перевіряють після зміни кожного реактиву, але не рідше одного разу на 3 mth (міс).

Референтні величини

Грунтуючись 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 білірубіну в сироватці або плазмі крові становить:

загальний білірубін до 18.81 μmol/l (мкмоль/л)= 11.0 mg/l (МГ/л)

прямий білірубін до 4.27 μmol/l (мкмоль/л) = 2.5 mg/l (МГ/л)

Перехід в додаткові одиниці: mg/l (МГ/л) x 1.71 = μmol/l (мкмоль/л)

Відтворюваність**Білірубін Загальний**

	Внутрисерйна (n=20)	Міжсерйна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	1,53	5,06	1,53
SD	0,03	0,05	0,03
CV, %	1,73	1,01	2,18

Білірубін Прямий

	Внутрисерйна (n=20)	Міжсерйна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	0,96	2,48	0,96
SD	0,024	0,051	0,043
CV, %	2,52	2,06	4,49

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (у), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (х) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати Білірубін загальний:

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,991

Рівняння регресії: $y=0,82743x - 0,0382$

Результати Білірубін прямий:

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,96

Рівняння регресії: $y=0,71177x - 0,05267$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Гемоліз призводить до зменшення вмісту білірубіну.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» («Лабораторія Гранум», Україна), «ERBA NORM, PATH» (Чехія). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності 12 mth (міс).

Вимоги безпеки та утилізації

1. P1, P2 юдка речовина. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води ти звернутися за консультацією до лікаря.

2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.

3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.

- Поява кольору в Р3.



Комплектація

	Кат. № 5.010	Кат. № 5.011
Вміст	200 визн.	600 визн.
P1	2 x 150 ml (мл)	2 x 450 ml (мл)
P2	2 x 150 ml (мл)	2 x 450 ml (мл)
P3	1 x 12 ml (мл)	1 x 32 ml (мл)

ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, e-mail: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

	Виробник Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер серії
	Виріб медичний для діагностики in vitro	Консультуйтесь з інструкцією із використання	
	Берегти від сонячного світла	Знак відповідності Технічним регламентам	Температурне обмеження
	Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів		