Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення кількості прямого білірубіну
в сироватці або плазмі крові
БІЛІРУБІН прямий DPD СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8ºС

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Загальний білірубін (прямий та непрямий) перетворюється у кольоровий комплекс азобілірубіну під впливом діазотованої сульфанілової кислоти у кислому середовищі. Інтенсивність кольору пропорційна концентрації білірубіну у зразку. Використовується для визначення білірубіну на автоматичних біохімічних аналізаторах.

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 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 - 100 mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** 2.4-DPD – 0.5 mmol/l (ммоль/л), соляна кислота – 0.3 mol/l (моль/л).
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Додаткові реагенти

Калібратор білірубіну постачається окремо. Рекомендовано використовувати СпЛ Мультикалібратор виробництва «Лабораторія Гранум».

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.513 -153.9 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.

2. Чутливість не менш 0.513 µmol/l (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 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків (гемоліз змінює рівень білірубіну).

Зразки стабільні при 2-8ºС протягом 4 d (доб), або 2 mth (міс) при -20º С. Захищати зразки від впливу сонячного світла.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 546 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 0.5-0.7 cm (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).

granum.ua

Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:
   довжина хвилі 546 (530-580) nm (нм)
   кювета з товщиною оптичного шару 0.5-0.7 cm (см)
   температура 37ºC
2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Стандартний зразок	Дослідний зразок
P1, µl (мкл)	200	200
Стандарт, µl (мкл)	12.5	-
Зразок, µl (мкл)	-	12.5
Перемішати та інкубувати 5 min (хв) при кімнатній температурі 37°C. Виміряти холосту оптичну щільність (E1) зразка та калібратора.		
P2, µl (мкл)	50	50

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

4. Перемішати, інкубувати протягом 5 min (хв) при температурі 37°C.
5. Виміряти оптичну щільність (E2) стандарту проти холостого стандартного зразка, E2 дослідного зразка проти холостого дослідного зразка.

Розрахунок результатів

$$\Delta E = E2 - E1$$

З калібратором:

$$C_{дос} = \frac{\Delta E_{дос}}{\Delta E_{кал}} \times C_{кал}$$

З фактором:

$$F = \frac{C_{кал}}{\Delta E_{кал}}$$

$$C_{дос} = \Delta E_{дос} \times F$$

де: $C_{дос}$ - концентрація білірубіну в дослідному зразку, µmol/l (мкмоль/л).
$\Delta E_{дос}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.
$\Delta E_{кал}$- оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.
$C_{кал}$ - вміст білірубіну прямого в калібраторі, µmol/l (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 прямого білірубіну в сироватці або плазмі крові становить
до 3.42 µmol/l (мкмоль/л) = 2 mg/l (мг/л)
Перехід в додаткові одиниці mg/l (мг/л) x 1.71 = µmol/l (мкмоль/л)

Відтворюваність

	Внутрисерійна (n=40)		Міжсерійна (n=80)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	0.7458	2.444	0,7458	2.444
SD	0.05868	0.0550	0.0276	0.024
CV, %	7.9	2.2	3.7	1.0

e-mail: **granumlab@gmail.com**
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)
granum.ua

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (y), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.
Порівняння було проведено на 53 зразках.
Результати:
Коефіцієнт кореляції $(r)^2$: 0.9986
Рівняння регресії: y=1.0056x – 0.1046
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. 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.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8ºC. 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** та **P2** їдкі речовини. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та 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 **P2**.

Комплектація

	Кат. № 5.020	Кат. № 5.007
Вміст	300 визн.	600 визн.
P1	1 x 60 ml (мл)	1 x 120 ml (мл)
P2	1 x 15 ml (мл)	1 x 30 ml (мл)

Символи на продукції

Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер серії
IVD 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

granum.ua

e-mail: **granumlab@gmail.com**
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)