

## УВАГА! ЗМІНА ІНТРУКЦІЇ



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

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

**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. Холестаза 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.** Буфер: Сульфанілова кислота - 30 mmol/l (ммоль/л); соляна кислота - 50 mmol/l (ммоль/л); ДМСО - 7 mol/l (моль/л).
2. **Реагент 2.** Буфер: Сульфанілова кислота - 30 mmol/l (ммоль/л); соляна кислота - 150 mmol/l (ммоль/л).
3. **Реагент 3.** Нітрит натрію - 29 mmol/l (ммоль/л).
3. Інструкція з використання.
4. Сертифікат якості.

**Додаткові реагенти**

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

**Аналітичні характеристики**

1. Лінійність вимірювального діапазону: 1.71 - 300  $\mu\text{mol/l}$  (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 помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 1.71  $\mu\text{mol/l}$  (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 білірубину). Захищати зразки від впливу сонячного світла.

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

### Перелік необхідного устаткування

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

**Прим:** Набір призначений для роботи на півавтоматичних та автоматичних біохімічних аналізаторах. Адаптації до приладів надаються за запитом.

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).  
Всі реагенти готові до використання.

### Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
  - довжина хвилі 555 (530-580) nm (нм)
  - кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (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 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
Стандарт, µl (мкл)	100	100	-	-
Зразок, 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
Стандарт, µl (мкл)	100	100	-	-
Зразок, 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 (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.

### 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

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 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

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	1,53	5,06	1,53	5,02
SD	0,03	0,05	0,03	0,11
CV, %	1,73	1,01	1,92	2,18

#### Білірубін Прямий

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	0,96	2,48	0,96	2,5
SD	0,024	0,051	0,043	0,035
CV, %	2,52	2,06	4,49	1,41

### Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати Білірубін загальний:

Коефіцієнт кореляції ( $r$ )<sup>2</sup>: 0,991

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

Результати Білірубін прямий:

Коефіцієнт кореляції ( $r$ )<sup>2</sup>: 0,96

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

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

### Специфічність

Гемоліз призводить до зменшення вмісту білірубину.

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника.. 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

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 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

### Вимоги безпеки та утилізації

1. **P1, P2** їдка речовина. 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 пластинок проводити згідно з чинним законодавством.

### Транспортування

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

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).

### Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- Поява кольору в РЗ.


### Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.









2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

### Комплектація

	REF 5.010	REF 5.011
Вміст	200 визн.	600 визн.
P1	1 x 300 ml (мл)	1 x 900 ml (мл)
P2	1 x 300 ml (мл)	1 x 900 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, [www.granum.ua](http://www.granum.ua)

### Символи на продукції

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