

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF № **HP005.01**

ТУ У **24.4-24607793-019-2003**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ТА ПРЯМОГО БІЛІРУБІНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (ЗА МЕТОДОМ ЕНДРАШІКА)

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для визначення концентрацій загального та прямого білірубину у сироватці крові людини в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково - дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **110 напівмікрровизначень** (55 визначень прямого та 55 загального білірубину) при витраті робочого розчину на визначення **відповідно цієї методики**. (Див. **Примітку 2**).

Діапазон визначаємих концентрацій - від 2 мг/л до 200 мг/л (від 3,4 мкмоль/л до 340 мкмоль/л).

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

В присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфанілова кислота утворює з непрямим та зв'язаним (прямим) білірубіном азобілірубін рожево-фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямопропорційна концентрації загального білірубину у пробі. У відсутності кофеїнового реактиву до реакції вступає лише прямий білірубін. По різниці між загальним та прямим білірубіном визначають концентрацію непрямого (вільного) білірубину.

СКЛАД НАБОРУ

1. Розчин сульфанілової кислоти - 1 флакон з (50 ± 2) мл;
- сульфанілова кислота - (25,0 ± 1,2) ммоль/л,
2. Кофеїновий реактив (концентрат) - 2 флакона з (50 ± 2) мл;
- бензоат натрію - (0,500 ± 0,025) моль/л
- ацетат натрію - (1,500 ± 0,075) моль/л
- кофеїн - (50,0 ± 1,5) г/л;
3. Розчин нітриту натрію 350 ммоль/л - 1 ампула з (5,0 ± 0,3) мл.

ЗРАЗОК

Сироватка, плазма.

Сироватка, плазма крові. Гемоліз неприпустимий. Зразки стабільні при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С протягом 5 годин або до 30 діб при температурі мінус 20 °С. Уникати повторного заморожування та відтаювання зразка. Уникати попадання світла. Сироватки, з концентрацією білірубину більше 200 мг/л, розводять дистильованою водою. Результат визначення множать на показник розведення.

При визначенні білірубину у немовлят для проведення аналізу сироватку розводять фізіологічним розчином в співвідношенні 1:4 (наприклад: 0,1 мл сироватки та 0,4 мл фізіологічного розчину).

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі (540-560) нм в діапазоні (0-1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм.
2. Колба мірна місткістю 100 мл, пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
3. Піпетки місткістю 1 і 5 мл (ГОСТ 29227-91).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

- Робочий кофеїновий реактив.** Вміст флакону з **Кофеїновим реактивом (концентратом)** кількісно переносять до мірної колби місткістю 100 мл та, після розчинення осаду, доводять дистильованою водою до мітки. Розчин стійкий при зберіганні в холодильнику протягом місяця (від плюс 2 °С до плюс 8 °С).
- Діазосуміш.** Безпосередньо перед роботою змішують необхідну кількість розчину сульфанілової кислоти та розчину нітриту натрію в співвідношенні 100 : 3.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, наведеною у таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Загальний білірубін	Холоста проба (Загальний)	Прямий білірубін	Холоста проба (Прямий)
Сироватка	0,50	0,50	0,50	0,50
Кофеїновий реактив	1,75	1,75	-	-
Фізіологічний розчин	-	0,25	1,75	2,00
Діазосуміш	0,25	-	0,25	-

Для визначення прямого білірубіну фотометрування слід проводити через (5-10) хв після додавання діазосуміші (при температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С), так як при довгочасній дії до реакції вступає вільний (непрямий) білірубін.

Для визначення загального білірубіну пробу для розвинення забарвлення витримують 20 хв (при температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С), після чого фотометрують. При подальшій експозиції забарвлення не змінюється.

Вимірювання оптичної щільності дослідних проб проводять проти відповідної холостої проби.

Фотометрування – див. розділ «Обладнання».

Розрахунок концентрації білірубіна проводять по калібрувальному графіку. Проаналізуйте калібрувальні розчини, також як і зразки, використовуючи замість зразків у холостої проби для загального білірубіну відповідний калібрувальний розчин.

Для визначення концентрації непрямого білірубіна з величини показника загального білірубіну віднімають величину показника прямого білірубіна.

Калібрувальні розчини готують, використовуючи набір реактивів «Білірубін калібратор».

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

загальний білірубін ⁶⁾

Вік	Недоношені, мкмоль/л	Доношені, мкмоль/л
Кров з пуповини	< 34	< 34
0-1 доба	< 137	24 - 149
1-2 доба	< 205	58 - 197
3-5 доба	< 274	26 - 205
	мкмоль/л	
> 5 діб - 60 років	5 - 21	
60- 90 років	3 - 19	
> 90 років	3 - 15	

непрямий білірубін ⁷⁾ - 6,3 - 15,4

прямий білірубін ⁷⁾ - 2,2 - 5,13

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки зі значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт С» (Росія), "ФілоНорм" або „ФілоПат" (Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Білірубін є продуктом розпаду темної частини гема, що вивільняється із старіючих або пошкоджених еритроцитів, які руйнуються в ретикулоендотеліальній системі. Потім білірубін транспортується в печінку з альбуміном. Усередині гепатоцитів білірубін зв'язується з глюкуроною кислотою і екскретує в жовч.

Існують спадкові і набуті захворювання, при яких порушується синтез, зв'язування, метаболізм і екскреція білірубину, які призводять до гіпербілірубінемії^{3,5}.

Гіпербілірубінемія незв'язаного білірубину спостерігається у новонароджених (фізіологічна жовтуха), при підвищеному руйнуванні еритроцитів (гемолітична анемія, обширні гематоми), при неефективному еритропоезі і при деяких рідкісних генетичних захворюваннях (синдром Жільбера, Синдром Кріглера-Найяра).

Гіпербілірубінемія зв'язаного білірубину викликана зниженою екскрецією жовчі при ураженні печінки (гепатит, цироз) або внутрішньопечінкового або позапечінкового холестазу.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

1. Ліпемія (тригліцериди > 50 мг/л) заважають визначенню.
2. Гемоглобін (10 г/л) не заважає визначенню.
3. Гемоліз впливає на хід визначення.
4. На хід визначення можуть робити вплив деякі ліки і речовини.⁵⁾

ПРИМІТКИ

1. Перед визначенням білірубину обстежувана людина не повинна приймати ліки та харчі, які викликають штучне забарвлення сироватки (морква, апельсин), а також вітамін «С».
2. **Розраховано на загальний об'єм реакційної суміші: 2,5 мл (напівмікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Кофеїновий реактив : Діазосуміш : Аналізуємий розчин = 7 : 1 : 2

У разі використання кювети з робочим об'ємом більше 2,5 мл кількість розчинів пропорційно збільшують (до заповнення кювети).

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Кофеїновий реактив - включає кофеїн (токсична речовина). Розчин сульфанілової кислоти включає соляну кислоту (їдка речовина), сульфанілову кислоту (підразнююча речовина).

УТИЛІЗУВАННЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану - тару в сортоване сміття.

ЛІТЕРАТУРА

1. Jendrassik L., Grof P., Biochem. Z. 294, 4 (1938).
2. Recommendation on a Uniform Bilirubin Standard, Clin. Chem. 8, 405 (1962).
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
4. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory test, 3th ed. AACC Press, 1997.
5. Yound DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, стр. 84 - 86, «Лабинформ», Москва, 1997.
7. Нормальні показники лабораторних досліджень. под ред. Є.Л. Гофмана, Львів, 1998, с.40.



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: felicit_d@ua.fm <http://www.felicite.com.ua>

Предлагаем Вашему вниманию ассортимент выпускаемой нами продукции

- для выполнения скрининга и количественного определения аналитов на латексных системах:

для качественного и полуколичественного определения анти-стрептолизина О (АСЛ-О), ревматоидного фактора (РФ), С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека (**“Филисит- АСЛ-О- латекс”, “Филисит- РФ - латекс”, “Филисит- СРБ – латекс”**).

- контрольные материалы для оценки выполнения исследований обмена веществ:

“Филисит-СКВ”, “ФилоНорм”, “ФилоПат”, “Калибратор альбумина 1000 мг/л”, “Калибраторы белка”, “Калибраторы креатинина», “Калибраторы гемихрома», “МультиКалибратор”, “Филисит-КГБС”, “Калибраторы глюкозы”, “Фило-БФК”, “Билирубин-калибратор», “Калибраторы гемоглобина”, “Калибраторы цианметгемиглобина», “Креатинин-калибратор”

- наборы реактивов для клинической биохимии для анализаторов открытого типа различных изготовителей:

(КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ: “Креатинин-КИН”, “ЛДГ”, “ЛДГ1”, «АЛТ-КИН», «АсАТ-КИН», ”Щелочная фосфатаза ДЕА”, ”Щелочная фосфатаза АМР”, “ α -Амилаза КИН”, “ГГТ-КИН”, “Холинестераза- КИН”) и

(МОНОРЕАГЕНТНЫЕ МЕТОДИКИ(подходят как для ручных методик, так и для анализаторов открытого типа различных изготовителей: “Триглицериды - Ф”, “Кальций ARS”, ”Фосфор-UV”, “Альбумин”, “Общий белок”, “Холестерин Ф”, “Холестерин-HDL”, “Глюкоза Ф”, “Общий белок-УЛ”, “Калий”, “Кальций”, “Магний”, “Хлориды-Ф”, “Гемоглобин”, «Гемоглобин-ГХ», “Мочевая кислота Ф”, “Глюкоза МОНО”.

- наборы реактивов для клинической биохимии для ручных методик:

“Железо (ЖСС)”, “Серогликоиды”, “Общие липиды”, «Фруктоза», “Билирубин”, “Фосфор”, “Хлориды-Т”, “Натрий”, “Креатинин”, “Мочевая кислота”, “Мочевина-Д”, “Мочевина-У”, “Мочевина-ОФА”, “Тимоловая проба”, “АЛТ”, “АсАТ”, “ГГТ”, “Щелочная фосфатаза”, “ α -Амилаза”, ”Щелочная фосфатаза НФФ”, “Холинестераза-АХХ”, “Холестерин-HDL Ф”, “Холестерин-LDL Ф”.

- наборы реактивов для микробиологических исследований: **«Набор для окраски по Граму»** (три модификации: с Карболовым фуксином по Цилю, **с нейтральным красным и с Сафранином**), **«Карболовый фуксин (1% раствор)»**, **«Набор для окраски по Цилю-Нильсену»**, **«ЛейкоФарб»** (набор для дифференциальной окраски лейкоцитов), **«РетикулоФарб»** (набор для дифференциальной окраски ретикулоцитов и эритроцитов), **«Краситель по Романовскому»** (набор для дифференциальной окраски форменных элементов крови при окрашивании препаратов периферической крови, костного мозга, других биопрепаратов).

А также в ассортименте выпускаемой нами продукции:

- реактив Эрлиха.