

«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

Код за НК 024:2019 – **63410**

REF № НР005.01

ТУ У 24.4-24607793-019-2003

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

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 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,15 мкмоль/л (540 нм).

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** тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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 непрямих (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 флакони по (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 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 (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **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).
2. **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 білірубіну проводять за калібрувальним графіком. Проаналізуйте калібрувальні розчини білірубіну, за схемою проведення аналізу **загального білірубіну**.

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

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

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

загальний білірубін, мкмоль/л⁶

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

непрямий білірубін⁷ - 6,3 - 15,4 мкмоль/л

прямий білірубін⁷ - 2,2 - 5,13 мкмоль/л

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

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).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

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^{3,4}.

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

Гемоліз впливає на хід визначення. (Гемоглобін (10 г/л) не заважає визначенню.) Ліпемія (тригліцериди > 50 мг/л) заважають визначенню.

На хід визначення можуть впливати деякі ліки і речовини⁵.

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 (ідка речовина), сульфанілову кислоту (подразнююча речовина).

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом 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.
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicite@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>

Пропонуємо до Вашої уваги асортимент продукції, що випускається
нами

НОВИНКИ 2019-2020

- набори реактивів для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі **“ПК АЗОПРАМ СКРИН”** та **“ПК ТОЛДІН СКРИН”**.

- набір реагентів для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір **“ФІЛОПЛАСТИН”**).

- набір для використання в якості допоміжного реагенту для роботи з реагентами на основі неповних антитіл при визначенні групи крові, при визначенні резус-фактору, скринінгу антитіл і пробі на індивідуальну сумісність методом конглютинації (**“ЖЕЛАТИНУ РОЗЧИН 10 %”**).

- для виконання скринінгу і кількісного визначення аналітів на латексних системах:

для якісного і напівкількісного визначення анти-стрептолізину О (АСЛ-О), ревматоїдного фактору (РФ), С-реактивного білку (СРБ) в сироватці крові людини (**“Філісіт - АСЛ-О- латекс”**, **“Філісіт - РФ - латекс”**, **“Філісіт - СРБ - латекс”**).

- контрольні матеріали для оцінки виконання досліджень обміну речовин :

“Філісіт-СКВ”, **“ФілоНорм”**, **“Філо-БФК”**, **“ФілоПат”**, **“Калібратор альбуміну 1000 мг/л”**, **“Калібратори білку”**, **“Білірубін-калібратор”**, **“Мультикалібратор”**, **“Калібратори креатиніну”**, **“Калібратори геміхрома”**, **“Філісіт-КГБС”**, **“Калібратори ціанметгемоглобіну”**, **“Креатинін-калібратор”**, **“Калібратори гемоглобіну”**, **“Калібратори глюкози”**.

- набори реактивів для клінічної біохімії для *аналізаторів відкритого типу різних виробників:*

КІНЕТИЧНІ МЕТОДИКИ: “Креатинін-КІН”, “ЛДГ”, “ЛДГ1”, “АлАТ-КІН”, “АСАТ-КІН”, “Лужна фосфатаза ДЕА”, “Лужна фосфатаза АМП”, “ α -АмілазаКІН”, “Холінестераза - КІН”, “ГГТ-КІН” і

МОНОРЕАГЕНТНІ МЕТОДИКИ (підходять як для ручних методик, так і для аналізаторів відкритого типу різних виробників: “Тригліцериди-Ф”, “Кальцій АРС”, “Фосфор-UV”, “Альбумін”, “Загальний білок”, “Холестерин Ф”, “Холестерин-HDL”, “Глюкоза Ф”, “Калій”, “Магній”, “Натрій РН”, “Хлориди-Ф”, “Гемоглобін”, “Гемоглобін-ГХ”, “Сечова кислота Ф”, “Глюкоза МОНО”, “Загальний білок-УЛ”.

- набори реактивів для клінічної біохімії для ручних методик:

“Залізо (3333)”, **“Сіроглікоїди”**, **“Кальцій”**, **“Загальні ліпіди”**, **“АлАТ”**, **“ГГТ”**, **“Фруктоза”**, **“Білірубін”**, **“Фосфор”**, **“Креатинін”**, **“ α -Амілаза”**, **“АсАТ”**, **“Сечовина-Д”**, **“Лужна фосфатаза”**, **“Сечовина-У”**, **“Сечовина-ОФА”**, **“Тимолова проба”**, **“Білкові фракції”**, **“Холінестераза-АХХ”**, **“Сечова кислота”**, **“Холестерин – HDL Ф”**, **“Холестерин – LDL Ф”**.

- набори реактивів для мікробіологічних досліджень: **“Забарвлення за Грамом”** (три модифікації: з Карболовим фуксином за Цілем, з Нейтральним Червоним і з Сафраніном), **“Карболовий фуксин (1% розчин)”**, **“Забарвлення за Цілем-Нільсеном”**, **“РетикулоФарб”** (набір для диференціального забарвлення ретикулоцитів і еритроцитів), **“Забарвлювач за Романовським”** (набір для диференціального забарвлення формених елементів крові при фарбуванні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів).

При виготовленні нашої продукції використовуються високоякісні реактиви провідних фірм, що спеціалізуються на виробництві сировини для діагностичних і аналітичних цілей, таких країн як Австрія, Великобританія, Німеччина, Швейцарія, Японія (наприклад: MERCK, Sigma - Aldrich).

Виробник дотримується принципу безперервного розвитку і залишає за собою право вносити (без попереднього повідомлення) зміни і удосконалення в продукцію.

ДЛЯ ОТРИМАННЯ ДЕТАЛЬНІШОЇ ІНФОРМАЦІЇ ПРО ПОЛПШЕННЯ, МОДИФІКАЦІЇ І СПЕЦИФІКАЦІЇ І, ЯКЩО У ВАС Є ЯКІ-НЕБУДЬ ПИТАННЯ, БУДЬ ЛАСКА, НЕ СОРОМТЕСЯ ЗВЕРТАТИСЯ ДО НАС БЕЗПОСЕРЕДНЬО.