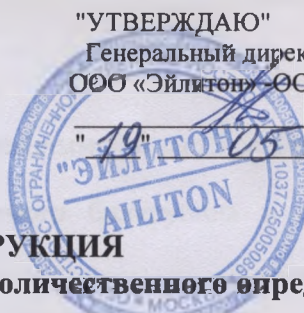




ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для количественного определения содержания
прямого билирубина в сыворотке или плазме крови человека
«ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1. Набор реагентов «ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН-UTS» предназначен для количественного определения содержания прямого билирубина в сыворотке или плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях для диагностики *in vitro*.
- 1.2. Содержание билирубина измеряют при дифференциальной диагностике различных форм желтух и их лечения.
- 1.3. Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.
- 1.4. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 66 (комплект 1) или 333 (комплект 2) определений прямого билирубина при расходе 1,5 мл реагента на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

При распаде гемоглобина первоначально образуется свободный билирубин, в плазме крови он присутствует в основном в комплексе «альбумин-билирубин». Гидрофобный (нерастворим в воде), липофильный (жирорастворимый) свободный билирубин, легко растворяясь в липидах мембран и проникая вследствие этого в митохондрии, нарушает метаболические процессы в клетках. Это отрицательно сказывается на состоянии центральной нервной системы, вызывая у больных ряд характерных неврологических симптомов.

Далее комплекс «альбумин-билирубин» транспортируется в печень, в клетках которой свободный билирубин при участии фермента связывается с глюкуроновой кислотой. В результате этого процесса (конъюгации) образуется **конъюгированный (прямой) билирубин** (водорастворимый и менее токсичный), который активно против градиента концентрации экскретируется в желчные ходы и в составе желчи поступают в кишечник.

Определение билирубина основано на реакции диазотирования билирубина диазосульфаниловой кислотой, в результате чего образуется соединение розового цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации билирубина в пробе и измеряется спектрофотометрически при 555 (530-580) нм. В норме в крови 75% общего билирубина приходится на долю непрямого билирубина и 25% на долю прямого билирубина.

2.2. Состав набора

Компоненты и их концентрации в реакционной смеси:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1	сульфаниловая кислота соляная кислота	30 ммоль/л 50 ммоль/л
Реагент 2	нитрит натрия	29 ммоль/л
Калибратор	лиофилизат билирубина	Точная концентрация указана на этикетке флакона

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- 3.1. Набор обеспечивает линейную область определения концентрации прямого билирубина в диапазоне от 1 до 170 мкмоль/л, отклонение от линейности не превышает 5%.
- 3.2. Чувствительность – не более 1,0 мкмоль/л.
- 3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

- 3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.
- 3.5. Нормальные величины концентрации прямого билирубина в сыворотке крови человека составляют: до 3,4 мкмоль/л.
- 3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.
- 4.2. Реагент 1 содержит соляную кислоту, которая вызывает сильные ожоги. Реагент 2 содержит токсичный компонент нитрит натрия. Следует избегать попадания реагентов на кожу, и в глаза. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки, необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.
- 4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 555 (530-580) нм.
- кюветы с длиной оптического пути 10 мм;
- секундомер;
- пипеточные дозаторы, позволяющие отбирать объемы жидкости 50, 100, 1500 мкл;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Свежая негемолизированная сыворотка или плазма крови.
- 6.2. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем за 1 час после забора крови и сохранять в темноте.
- 6.3. Образцы сыворотки с билирубином стабильны при 2-8 °С в течение 3 суток и в течение 2-х месяцев при -20 °С. *Хранить образцы следует в темноте, т.к. билирубин разлагается на свету!*

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 7.1. Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.
- 7.2. Во флакон с калибратором добавить 1 мл дистиллированной воды, растворить, аккуратно вращая флакон.
- 7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

Внести в кювету, мкл:	Анализируемая проба	Холостая проба по образцу	Калибровочная проба	Холостая проба по калибратору,
Реагент 1	1500	1500	1500	1500
Реагент 2	50	—	50	—
Сыворотка или плазма крови	100	100	—	—
Калибратор	—	—	100	100

- 7.3. Реакционную смесь перемешать и инкубировать точно 5 минут при комнатной температуре (18-25 °С) или 37 °С.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема

используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки крови к реагенту 1 у взрослых составляет 1:15; при проведении исследования у новорожденных допускается использование соотношения 1:30 с последующим умножением полученного результата на два).

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность ($A_{\text{кал}}$) калибровочной пробы против холостой пробы *по калибратору*; оптическую плотность ($A_{\text{обр}}$) анализируемой пробы против холостой пробы *по образцу* при длине волны 555 (530-580) нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Определить по калибратору билирубина фактор пересчета (F) оптической плотности в мкмоль/л по формуле:

$$F = \frac{C_{\text{кал}}}{A_{\text{кал}}},$$

где: $C_{\text{кал}}$ – концентрация билирубина в калибраторе;

$A_{\text{кал}}$ – оптическая плотность калибровочной пробы (ед. оптич. плотн.), измеренная относительно холостой пробы по калибратору.

9.2. Концентрацию прямого билирубина (C) в мкмоль/л рассчитать по формуле:

$$C = F \times A_{\text{обр}}$$

где: C – концентрация билирубина в анализируемом образце;

$A_{\text{обр}}$ – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. оптич. плотн., измеренная относительно холостой пробы по образцу.

9.3. Если полученное значение концентрации выше 170 мкмоль/л, образец разбавить в 2 раза физиологическим раствором, приготовить и измерить пробы согласно п.7.3-9.2, результат определения умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ОБЩИЙ БИЛИРУБИН – UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25 °С не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности наборов 12 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности в плотно закрытых флаконах.

10.4. Калибратор после приготовления раствора можно хранить при температуре +2-8 °С в защищенном от света месте в течение 3 дней в плотно закрытом флаконе.

10.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

 Нечаев В.Н.

«Согласовано»

зав. кафедрой клинической

лабораторной диагностики ГОУ ДПО

«РМАПО Росздравнадзора»

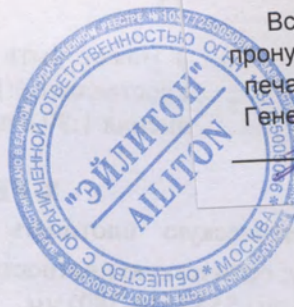
И.м.н., профессор Долгов В.В.

2009 г

Подпись 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: 



По вопросам, касающимся качества набора «ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН-UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О Юнимед» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31. Факс: (495) 564-86-41. E-mail: office@unimedao.ru <http://www.unimedao.ru>



Всего прошнуровано _____
пронумеровано и скреплено печатью _____
Генеральный директор _____
А.Н. Шин

