

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

От _____ 20 ____ г.

№ _____



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «НПФ АБРИС+»

В.М. Марковский

11 ноября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для определения концентрации
общего и прямого билирубина в сыворотке и плазме крови
(«БИЛИРУБИН-АБРИС+»)**

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения концентрации общего и прямого билирубина в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение не менее 200 определений общего и 200 определений прямого билирубина при конечном объеме 1,0 мл.

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип метода

В результате реакции между билирубином и диазотированной сульфаниловой кислотой образуется окрашенный комплекс, имеющий максимум поглощения при длине волны 540 нм. Для определения общего билирубина необходима диссоциация неконъюгированного (непрямого, свободного) билирубина, что достигается введением в реакционную смесь диметилсульфоксида. При определении содержания конъюгированного (прямого, связанного) билирубина диметилсульфоксид из реакционной смеси исключается. Концентрация неконъюгированного билирубина рассчитывается по разнице концентрации между общим и конъюгированным билирубином.

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- Реагент 1 [сульфаниловая кислота, 24 ммоль/л; соляная кислота, 100 ммоль/л; диметилсульфоксид, 400 г/л], готов к применению - 1 флакон (250 мл);
- Реагент 2 [натрия нитрит, 72 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (10 мл);
- Калибратор 1 [билирубин, 45 мкмоль/л], перед применением растворить в деионизованной воде, количество которой указано в паспорте на калибратор – 1 флакон;
- Реагент 3 [хлорид натрия, 154 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (200 мл);
- Реагент 4 [сульфаниловая кислота, 24 ммоль/л; соляная кислота, 100 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (50 мл);
- Реагент 5 [натрия нитрит, 65 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (5,0 мл);
- Калибратор 2 [билирубин, 10 мкмоль/л], перед применением растворить в деионизованной воде, количество которой указано в паспорте на калибратор – 1 флакон;

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

3.1. Линейность

Линейная область определения концентрации общего билирубина находится в диапазоне от 4,0 до 340 мкмоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

Линейная область определения концентрации прямого билирубина находится в диапазоне от 2,0 до 250 мкмоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

3.3. Нормальные величины:

Общий билирубин – 5-21 мкмоль/л;
Связанный билирубин – <3,4 мкмоль/л;
Несвязанный билирубин – <19 мкмоль/л.

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

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.

При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительно сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.



5. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 540 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка крови, гепаринизированная или ЭДТА-плазма крови. Гемолиз недопустим.

Хранить в темноте

7. Проведение анализа

7.1. Определение общего билирубина

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ДИАЗОРЕАГЕНТА 1 : Смешать Реагент 1 и Реагент 2 в соотношении 30 : 1. Диазореагент 1 стабилен 5 дней при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в темноте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Компоненты	Опытная проба	Калибратор	Контроль на реактивы
Диазореагент 1, мкл	1000	1000	1000
Сыворотка крови, мкл	40	---	---
Калибратор 1, мкл	---	40	---
Вода, мкл	---	---	40

Смешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 5 минут. Измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против контроля на реактивы при $\lambda = 540$ нм и $d = 1$ см.

7.2. Определение прямого билирубина

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ДИАЗОРЕАГЕНТА 2 : Смешать Реагент 4 и Реагент 5 в соотношении 10 : 1. Диазореагент 2 стабилен 5 дней при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в темноте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Компоненты	Опытная проба	Калибратор	Контроль на реактивы
Реагент 3, мкл	1000	1000	1000
Сыворотка крови, мкл	100	---	---
Калибратор 2, мкл	---	100	---
Вода, мкл	---	---	100

Смешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 3-5 минут. Измерить оптическую плотность пробы ($E1_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E1_{\text{калибратора}}$) против контроля на реактивы при $\lambda = 540$ (500-560) нм и $d = 1$ см. Добавить:

Диазореагент 2, мкл	250	250	
---------------------	-----	-----	--

Смешать и инкубировать при температуре 37°C точно 5 минут. Измерить оптическую плотность пробы ($E2_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E2_{\text{калибратора}}$) против контроля на реактивы при $\lambda = 540$ (500-560) нм и $d = 1$ см.



8. Расчеты

8.1. Общий билирубин

$$C = 45 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \text{ (мкмоль/л).}$$

8.2. Прямой билирубин

$$C = 10 \times \frac{E2_{\text{пробы}} - E1_{\text{пробы}}}{E2_{\text{калибратора}} - E1_{\text{калибратора}}} \text{ (мкмоль/л).}$$

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 18-25°C в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Минздрав России»
д.м.п., профессор

В.В. Долгов

