

**КОПИЯ
ВЕРНА**

УТВЕРЖДАЮ

**Руководитель федеральной
службы по надзору в сфере
здравоохранения и
социального развития**

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ЗАО «Вымпел-Медцентр»

к.м.н. С.П.Кондрашов

30.03.06.

Р.У.Хабриев

" 10 " 04 2006 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для определения концентрации
общего и прямого билирубина в сыворотке крови**

БИЛИРУБИН

Назначение

Набор предназначен для количественного определения общего и прямого билирубина в сыворотке крови колориметрическим методом в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений общего и 200 определений прямого билирубина при конечном объеме 2,0 мл.

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 кофеина. При определении содержания конъюгированного (прямого, связанного) билирубина кофеин из реакционной смеси исключается. Концентрация

Инструкция составлена руководителем проекта по производству биохимических наборов ООО «НПФ Абрис+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.
неконъюгированного билирубина рассчитывается по разнице концентрации между общим и конъюгированным билирубином.

Состав набора

В состав набора входят следующие компоненты:

Сульфаниловая кислота [сульфаниловая кислота, 24 ммоль/л; соляная кислота, 100 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (200 мл);

Натрия нитрит [натрия нитрит, 72 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (20 мл);

Кофеиновый реагент [кофеин, 240 ммоль/л; натрия бензоат, 250 ммоль/л; натрий уксуснокислый, 300 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (250 мл);

Физиологический раствор [натрия хлорид, 154 ммоль/л], готов к применению - 1 флакон (250 мл);

Калибратор, лиофилизат [концентрация билирубина после растворения лиофилизата в 2,0 мл дистиллированной воды - 85,5 мкмоль/л; бычьего сывороточного альбумина - 70 г/л] - 1 флакон.

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации билирубина - в диапазоне концентраций от 8,0 до 400 мкмоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Чувствительность определения концентрации билирубина не более 5,0 мкмоль/л.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам с известной концентрацией билирубина, аттестованным данным методом.

Нормальные величины общего билирубина в сыворотке: 8,5 - 20,5 мкмоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Свежая сыворотка крови. Гемолиз анализируемого образца недопустим.

Меры предосторожности

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР", Москва, 1981 г.

При работе с сывороткой следует надевать одноразовые резиновые или латексные перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита В, любой другой возбудитель вирусной инфекции.



Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 540 нм или фотоколориметр длина волны 500-560 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01-0,05 мл, 0,04-0,2 мл, 0,2-1,0 мл;
- 1,0-5,0 мл;
- пробирки вместимостью 5,0-10 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Приготовление диазореагента

Содержимое флакона с сульфаниловой кислотой смешать с содержимым флакона с натрия нитритом в соотношении 10:1.

Полученный диазореагент можно хранить при комнатной температуре (18-25°C) не более 48 часов и при температуре 2-8°C не более 10 дней в темном месте в плотно закрытой посуде.

Проведение анализа

Содержимое флакона с лиофилизатом калибратора растворить в 2,0 мл дистиллированной воды. Концентрация билирубина в полученном растворе калибратора составляет – 85,5 мкмоль/л. Калибратор готов к использованию через 20 минут после начала растворения. **Реагент светочувствителен!**

1. Определение содержания общего билирубина:

Проба: смешать 0,55 мл диазореагента, 1,25 мл кофеинового реагента и 0,2 мл сыворотки крови.

Контроль на реактивы для пробы: смешать 0,50 мл раствора сульфаниловой кислоты, 1,3 мл кофеинового реагента и 0,2 мл сыворотки крови.

Калибратор: смешать 0,55 мл диазореагента, 1,25 мл кофеинового реагента и 0,2 мл раствора калибратора.

Контроль на реактивы для калибратора: смешать 0,50 мл раствора сульфаниловой кислоты, 1,3 мл кофеинового реагента и 0,2 мл раствора калибратора.

Время инкубации – 20 мин при температуре 18-25°C.



$\lambda = 540$ (500-560) нм;

$d = 1$ см;

Измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против соответствующих контролей на реактивы.

2. Определение содержания связанного билирубина:

Проба: смешать 0,55 мл диазореагента, 1,25 мл физиологического раствора и 0,2 мл сыворотки крови.

Контроль на реактивы для пробы: смешать 0,50 мл раствора сульфаниловой кислоты, 1,3 мл физиологического раствора и 0,2 мл сыворотки крови.

Время инкубации – 5 мин при температуре 18-25°C.

Калибровочная проба ставится с использованием кофеинового реагента, как это описано в п.1

$\lambda = 540$ (500-560) нм;

$d = 1$ см;

Измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против соответствующих контролей на реактивы.

Расчеты

Концентрацию билирубина в исследуемых образцах рассчитать по формуле:

$$C = 85,5 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \text{ (мкмоль/л).}$$

Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора – 12 месяцев.

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

Реагенты (кроме калибратора) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C не более 30 дней.

Калибратор после разведения можно хранить при температуре 2-8°C в темном месте не более 5 дней.

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

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «Абрис+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, а/я 355; тел./факс: (812) 127-24-40, 127-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>



и в Институт государственного контроля лекарственных средств НЦ ЭКГЛС Минздрава РФ
по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А. Тел: (095) 120-60-95.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Руководитель проекта по производству
биохимических наборов ООО «НПФ Абрис+»,
к.б.н.

Ю.Г.Попов

