

При концентрации билирубина выше, чем 452 мкмоль/л, исследуемый образец необходимо развести раствором натрия хлористого 9 г/л в соотношении 1:1, повторить анализ, полученный результат умножить на 2.

Срок хранения 2 года при +2–8° С.

Инструкция по применению набора под биохимические анализаторы высылается по запросу.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.

Инструкция составлена: В.В. Гладуном – главным технологом ООО «Агат-Мед», И.В. Тишкиной – научным сотрудником ООО «Агат-мед», И.В. Смирновым – зав. лабораторией ГНЦ РАМН.



Клиническая
биохимия

105173, Москва, ул. Западная,
д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».
Тел.: (495) 777-41-92.
Факс: (495) 741-25-19.
www.agat.ru agat@agat.ru

БИЛИРУБИН ОБЩИЙ

fast 100

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
общего билирубина в сыворотке крови
модифицированным методом Ендрашика-Грофа

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного колориметрического определения концентрации билирубина в сыворотке крови человека модифицированным методом Ендрашика-Грофа в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора на один анализ, включая холостые пробы.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Билирубины, прямой (конъюгирован с глюкоронатом) и непрямой (неконъюгированный, связанный с альбумином), в присутствии кофеина и детергента, соединяются с диазотированной сульфаниловой кислотой. Образуется азосоединение, окрашенное в красный цвет, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации билирубина в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 546 нм.

Термины «прямой» и «общий» относятся к реакционным характеристикам сывороточного билирубина в отсутствие или присутствии растворяющего (ускоряющего) реагента (акселератора), которые только приблизительно являются эквивалентами конъюгированной и неконъюгированной фракций билирубина.

СОСТАВ НАБОРА

1. **АТ реактив**, (сульфаниловая кислота – 14 ммоль/л, соляная кислота – 100 ммоль/л, кофеин – 200 ммоль/л, бензоат натрия – 420 ммоль/л, детергент Brij 35–35 г/л), 100 мл – 2 флакона;
2. **ВТ реактив** (нитрит натрия – 310 ммоль/л), 10 мл – 1 флакон;
3. **Калибратор** (лиофильно высушенный раствор билирубина в альбумине с концентрацией в интервале 100–130 мкмоль/л), 2 мл – 1 флакон.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации билирубина:
8–452 мкмоль/л, отклонение от линейности – не более 8%.

Чувствительность определения: не более 3 мкмоль/л.

Воспроизводимость: коэффициент вариации – не более 8%.

Нормальные величины концентрации общего билирубина в сыворотке крови составляют:

- для взрослых: до 8,5–20,5 мкмоль/л;
- при рождении: до 85,5 мкмоль/л;
- для новорожденных (5 дней): до 205 мкмоль/л;
- для новорожденных (1 месяц): до 25,6 мкмоль/л.

Качество набора можно оценивать по контрольным сывороткам отечественного или зарубежного производства, аттестованным данным методом.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

АТ реактив содержит едкие вещества. В случае попадания раствора на кожу и (или) слизистые необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством воды. Пипетирование *per os* категорически запрещается. Другие компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с сывороткой или плазмой крови необходимо соблюдать правила техники безопасности принятые в лаборатории, т.к. образцы человеческой крови следует рассматривать как потенциально инфицированные.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Анализатор, спектрофотометр, или фотометр, длина волны волны 546 нм или светофильтр в диапазоне 520–560 нм;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 и 1,0 мл;
- пробирки центрифужные или флаконы вместимостью 5–10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови, свежая плазма стабилизированная ЭДТА или гепарином. Билирубин стабилен в течение 3-х дней при хранении при +2–8° С при хранении образца в защищенном от света месте.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

АТ и ВТ реактивы. Растворы готовы к применению.

Калибратор. Аккуратно вскрыть флакон с лиофилизатом. Добавить точно 2,0 мл дистиллированной воды. Перемешать, не допуская вспенивания. Через 10 минут калибратор готов к применению. Точная концентрация указана на флаконе.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице:

Отмерить, мл	Опытная проба	Холостая опытной пробы	Калибровочная проба	Холостая калибровочной пробы
АТ реактив	1,00	1,00	1,00	1,00
ВТ реактив	0,05	-	0,05	-
Тщательно перемешать, инкубировать около 5 минут				
Сыворотка	0,10	0,10	-	-
Калибратор	-	-	0,10	0,10

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при температуре +18–25° С в течение 10–30 минут *. Измерения проводить при длине волны 546 (520–560) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Измерить величину оптической плотности калибровочной E_K и опытных проб $E_{оп}$ против соответствующих холостых проб. Окраска устойчива в течение 1,5 часов после окончания инкубации.

Определить по калибратору билирубина фактор (F) по формуле:

$$F = \frac{C_K}{E_K},$$

где: C_K – концентрация билирубина в калибраторе (указана на флаконе), мкмоль/л;

E_K – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.

Содержание общего билирубина определить по формуле:

$$C = E_{оп} \times F,$$

где: $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;

F – фактор пересчета оптической плотности в мкмоль/л.

Примечание: При проведении большого количества анализов для удобства работы можно смешать реактивы АТ и ВТ в соотношении 20:1 и полученный рабочий раствор использовать в течение 8 часов.

* Допускается использование термостатируемой кюветы, т.е. проведение анализа при +37° С.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор 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.

АТ и ВТ реактивы после вскрытия флаконов могут храниться в закупоренном виде при температуре +2–25° С в течение всего срока годности набора.

Калибратор во флаконе может храниться в закупоренном виде в течение 8 часов при +25° С, 3-х суток при +2–8° С, или 2 недели при –20° С после разведения. Хранить в темном месте!