

### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО И ПРЯМОГО БИЛИРУБИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ.№ В-10903)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 26.02.2008 г. № 1014-Пр/08  
РУ № ФСР 2008/02104 от 26.02.2008 г.

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического количественного определения содержания общего и прямого билирубина в сыворотке крови методом Йендрашика-Грофа в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на определение общего и прямого билирубина в 300 образцах при конечном объеме реакционной смеси 2 мл.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямой (конъюгированный с глюкуроновой кислотой) билирубин непосредственно реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой, а несвязанный – в присутствии кофеинового реактива с образованием окрашенного азобилирубина. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию билирубина.

#### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1. Кофеиновый реактив, концентрат ..... 100 мл  
Реагент 2. Сульфаниловая кислота, концентрат ..... 20 мл  
Реагент 3. Нитрит натрия ..... 25 мл  
Калибратор билирубина, лиофилизат ..... 2 мл

Точное значение концентрации билирубина указано на этикетке флакона с калибратором.

#### Дополнительные реактивы

Физиологический (0,9%) раствор хлорида натрия (в состав набора не входит).

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Чувствительность** – не более 2 мкмоль/л.

**Линейность** – от 3 до 310 мкмоль/л с отклонением не более 10%.

**Коэффициент вариации** – не более 10%.

#### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка крови, свободная от гемолиза, липемии, прозрачная.

Общий билирубин в сыворотке крови стабилен в плотно закрытых сосудах при 18-25°C в течение 2 дней, прямой – в течение 1 дня, при 2-8°C общий и прямой билирубин стабильны в течение 7 дней [1].

#### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр или полуавтоматические анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объемы 0,2-2,0 мл, секундомер, штатив, пробирки вместимостью 10-20 мл, дистиллированная вода.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

##### 1. Приготовление кофеинового реактива

Концентрат кофеинового реактива (реагент 1) развести дистиллированной водой до 500 мл. Реактив стабилен при 18-25°C в течение месяца.

##### 2. Приготовление рабочего раствора сульфаниловой кислоты

Концентрат сульфаниловой кислоты (реагент 2) развести дистиллированной водой до 100 мл. Рабочий раствор сульфаниловой кислоты стабилен при 18-25°C в течение всего срока годности набора (18 месяцев).

##### 3. Приготовление диазореагента

Смешать необходимые количества рабочего раствора сульфаниловой кислоты и раствора нитрита натрия (реагент 3) в соотношении 4:1. Диазореагент необходимо использовать в течение 3 часов.

##### 4. Приготовление калибратора

Во флакон с калибратором добавить точно 2,00 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном перемешивании. Раствор калибратора билирубина неустойчив, его необходимо хранить в защищенном от света месте при температуре 2-8°C в течение 1 суток, в замороженном состоянии – в течение 3 недель.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 540 (520-560) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 18-25°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

#### Схема определения

Раствор	Общий билирубин	Прямой билирубин	Холостая проба	Калибровочная проба	Холостая проба для калибратора
Образец, мл	0,2	0,2	0,2	–	–
Калибратор, мл	–	–	–	0,2	0,2
Кофеиновый реактив, мл	1,6	–	–	1,6	–
Физ.раствор, мл	–	1,6	1,8	–	1,8
Диазореагент, мл	0,2	0,2	–	0,2	–

*Содержимое пробирок осторожно перемешать и инкубировать при комнатной температуре. Измерить оптическую плотность опытной пробы ( $E_{обр.}$ ) и калибровочной пробы ( $E_{кал.}$ ) против соответствующей холостой пробы: при определении прямого билирубина **точно** через 5 мин. после добавления диазореагента; при определении общего билирубина – через 20 мин. после добавления диазореагента.*

При определении общего билирубина окраска стабильна в течение 1 часа.

# КлиниТест-Бил

## Метод Йендрашика-Грофа

### РАСЧЁТ

Содержание билирубина  $C$  в анализируемой пробе рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{\text{обр.}} \cdot C_{\text{кал.}}}{E_{\text{кал.}}} \text{ мкмоль/л,}$$

где  $C_{\text{кал.}}$  – концентрация билирубина в калибраторе, мкмоль/л.

### ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Полуавтомат
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	540 (520-560)
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	18-25°C
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, мкмоль/л	*
Соотношение реагент/проба	9:1
Время реакции, сек	–
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности, мкмоль/л	3-310
Максимум нормы, мкмоль/л	20,5**
Минимум нормы, мкмоль/л	7,5**

\*Точное значение концентрации билирубина указано на этикетке флакона с калибратором.

\*\*Приведены нормальные значения содержания общего билирубина.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-Бил» на вашем анализаторе.

### ПРИМЕЧАНИЕ

При содержании билирубина в исследуемом образце больше 310 мкмоль/л образец необходимо разбавить дистиллированной водой в 2 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 2.

### НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Прямой билирубин 1,6-6,2 мкмоль/л  
Общий билирубин 7,5-20,5 мкмоль/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

В состав набора входит едкое вещество – соляная кислота и вредное вещество – нитрит натрия. При попадании их на слизистую или на кожу смыть большим количеством проточной воды.

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев). Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, "Лабинформ", с. 151.