

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПРЯМОГО БИЛИРУБИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ. №№ В-10991, В-10992, В-10993)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического количественного определения содержания прямого билирубина в сыворотке крови в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100, 250 и 500 определений прямого билирубина при конечном объеме реакционной смеси 1 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямой (конъюгированный с глюкуроновой кислотой) билирубин в кислой среде реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием окрашенного азобилирубина. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию билирубина.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (1). Натрий хлористый – 9 г/л, ЭДТА – 0,1 ммоль/л, консервант.

Реагент 2 (2). Сульфаниловая кислота – 5 ммоль/л, соляная кислота – 250 ммоль/л.

Реагент 3 (Р3). Нитрит натрия – 20 ммоль/л.

Калибратор билирубина, лиофилизат.

Точное значение концентрации билирубина указано на этикетке флакона с калибратором.

Кат. №	Фасовка
В-10991	Р1 1х100 мл + Р2 1х20 мл + Р3 1х5 мл + калибратор 2 мл
В-10992	Р1 1х250 мл + Р2 1х50 мл + Р3 1х13 мл + калибратор 2 мл
В-10993	Р1 2х250 мл + Р2 1х100 мл + Р3 1х25 мл + калибратор 2 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 2 мкмоль/л.

Линейность – от 3 до 171 мкмоль/л с отклонением не более 7%.

Коэффициент вариации – не более 7%.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

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.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр или полуавтоматические анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объёмы 0,1-1,0 мл, секундомер, штатив, пробирки вместимостью 10-20 мл, дистиллированная вода.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. Приготовление диазореактива

Смешать необходимые количества реагентов 2 и 3 в соотношении 4:1. Диазореагент стабилен не менее 5 дней при хранении его в защищённом от света месте при температуре 2-8°C.

2. 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 защищённом от света месте при температуре 2-8°C в течение 1 суток, в замороженном состоянии – в течение 3 недель.

Реагенты 1 готов к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 540 (520-560) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

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

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Реагент 1, мл	1,0	1,0	1,0
Дистиллированная вода, мл	–	–	0,1
Калибратор, мл	–	0,1	–
Образец, мл	0,1	–	–

Все пробы перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.1}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.1}$) относительно холостой пробы.

Диазореагент, мл	0,25	0,25	0,25
------------------	------	------	------

*Все пробы перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение **точно 5 мин.** и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.2}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.2}$) относительно холостой пробы.*

Окраска стабильна в течение 1 часа.

РАСЧЁТ

Содержание прямого билирубина **С** в анализируемой пробе рассчитать по формуле:

$$C = \left(\frac{E_{обр.2} - E_{обр.1}}{E_{кал.2} - E_{кал.1}} \right) \cdot C_{кал.} \text{ мкмоль/л}$$

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

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	540 (520-560)
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	37°C
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, мкмоль/л	*
Соотношение реагент 1/ реагент 2/проба	20:5:2
Время реакции, сек.	–
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности, мкмоль/л	3-171
Максимум нормы, мкмоль/л	6,2
Минимум нормы, мкмоль/л	1,6

*Значения концентрации билирубина указано на этикетке флакона с калибратором.

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

ПРИМЕЧАНИЕ

При содержании прямого билирубина в исследуемом образце выше 171 мкмоль/л образец необходимо разбавить дистиллированной водой в 2 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 2.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Прямой билирубин 1,6-6,2 мкмоль/л

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Калибратор после вскрытия флаконов можно хранить в защищённом от света месте при температуре 2-8°C в течение 1 суток, в замороженном состоянии – в течение 3 недель.

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.