

БИЛИРУБИН ПАРМА

Набор реагентов для определения содержания прямого билирубина в сыворотке крови.

Код №	Фасовка (мл)	Количество определений (1000/200 мкл)
10705	1x100, 1x20, 1x5	100/500
20705	4x100, 1x80, 1x20	500/2500

РУ № ФСР 2009/05668 от 15/09/2009 г.

Приказ № 7239-Пр/09 от 15/09/2009 г., № 8291 от 12/12/2014 г.

ПРИНЦИП

Прямой (конъюгированный с глюкуроновой кислотой) билирубин в кислой среде реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием окрашенного азобилирубина. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию билирубина и измеряется при длине волны 540 нм.

СОСТАВ НАБОРА И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагент 1 (P1)	натрий хлористый ЭДТА	9 г/л 0,1 ммоль/л
Реагент 2 (P2)	Сульфаниловая кислота соляная кислота	5 ммоль/л 250 ммоль/л
Реагент 3 (P3)	Нитрит натрия	20 ммоль/л
Калибратор	Билирубин, лиофилизат	40-80 мкмоль/л

* Точная концентрация калибратора указана на этикетке флакона.

Набор необходимо хранить в упаковке предприятия изготовителя при 2-8°C в течение всего срока годности – 12 месяцев.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагент 1 готов к использованию. Реагент 1 после вскрытия стабилен до конца срока годности набора при 2-8°C.

1. Приготовление диазореагента

Смешать необходимые количества реагентов 2 и 3 в соотношении **4:1**. Диазореагент стабилен не менее 5 дней при хранении его в защищенном 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 защищенном от света месте не более 1 суток при 2-8°C или в течение 3 недель в замороженном состоянии.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность от 3 мкмоль/л до 171 мкмоль/л.

Коэффициент вариации – не более 7%.

ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

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

ПРОЦЕДУРА

Длина волны : 540 нм (520-560) нм

Оптический путь : 1 см

Температура : 37°C

Холостая проба : против реагента. На серию измерений требуется только одна холостая проба.

Внести:	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Реагент 1	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл
Дист. вода	-	-	100 мкл
Калибратор	-	100 мкл	-
Сыворотка	100 мкл	-	-

Все пробы перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.1}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.1}$) относительно холостой пробы.

Реагент 2	250 мкл	250 мкл	250 мкл
-----------	---------	---------	---------

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.

Парма Диагностика • Биохимические реактивы

пробы.

РАСЧЕТ

Содержание общего билирубина **C** в анализируемой пробе рассчитать по формуле:

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

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

Если концентрация билирубина в пробе превышает 171 мкмоль/л, образец развести дистиллированной водой в 2 раза, анализ повторить, полученный результат умножить на 2.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Прямой билирубин 1,7-6,2 мкмоль/л

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Правильность проверена при помощи контрольных сывороток Lyphochek кат. №№ С-310-5 и С-315-5 (Bio-Rad, США).

ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОГРАММИРОВАНИЯ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	540 (520-560)
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	37 °С
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта	*
Соотношение реагент/проба, (мкл/мкл)	10:2,5:1
Время реакции, сек	-
Верхний предел абсорбции реагента против воды, А	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, А	0,0
Границы линейности. г/л	3-171
Максимум нормы, г/л	6,2
Минимум нормы, г/л	1,7

Примечания

* Точная концентрация калибратора указана на этикетке флакона.

ЛИТЕРАТУРА

3. Van den Bergh A, Muller P. // Biochem. Z. 1960. Vol. 77. P. 90.
4. Perry B. W., Doumas B. T., Bayse D. D. et al. A candidate reference method for determination of bilirubin in serum. Test for transferability // Clin. Chem. 1983. Vol. 29. P. 297–301.