

## БИЛИРУБИН ОБЩИЙ И ПРЯМОЙ ПАРМА (по фактору)

Набор реагентов для количественного определения содержания общего и прямого билирубина в сыворотке крови колориметрическим методом Ендрассика-Графа.

Код №

20712 - 5x100 мл

РУ № ФСР 2009/05668 от 15/09/2009 г.

Приказ № 7239-Пр/09 от 15/09/2009 г.

### ПРИНЦИП

Билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой в присутствии акселератора реакции кофеина (общий билирубин) и в отсутствие акселератора (прямой билирубин) с образованием азобилирубина – продукта, окрашенного в красный цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации билирубина в пробе.

### СОСТАВ НАБОРА И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

<b>Реагент 1 (Р1)</b> Кофеин	Кофеин Бензоат натрия	1,2 моль/л
<b>Реагент 2 (Р2)</b> Сульфаниловая кислота	Сульфаниловая кислота Соляная кислота	0,12 ммоль/л 7 ммоль/л
<b>Реагент 3 (Р3)</b> Нитрит натрия	Нитрит натрия	2,5 ммоль/л

Набор необходимо хранить в упаковке предприятия изготовителя при 18-25°C в течение всего срока годности – 18 месяцев.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ

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

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты 1, 2 и 3 готовы к использованию. Реагенты после вскрытия стабильны до конца срока годности набора при 18-25°C.

**Приготовление диазореагента.** Смешать реагенты 2 и 3 в соотношении 4:1. Диазореагент стабилен в течение 1 дня в посуде из темного стекла при 18-25°C.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность от 3 мкмоль/л до 300 мкмоль/л.

Коэффициент вариации – не более 10%.

### ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Свежая сыворотка крови, свободная от гемолиза.

### ПРОЦЕДУРА

Длина волны : 540 нм (520-560) нм

Оптический путь : 1 см

Температура : 20 -25°C

Холостая проба : индивидуальная для каждой сыворотки.

Внести:	Опытная проба Общий билирубин	Опытная проба Прямой билирубин	Холостая проба
Реагент 1	800 мкл	–	–
Диазореагент	100 мкл	100 мкл	–
Физраствор	–	800 мкл	0,9 мл
Сыворотка	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Перемешать, инкубировать при комнатной температуре.

Прямой билирубин: точно через 5 мин. измерить оптическую плотность каждой пробы (А пробы) против собственной холостой пробы.

Общий билирубин: через 20 мин. измерить оптическую плотность каждой пробы (А пробы) против собственной холостой пробы.

**РАСЧЕТ**

$$C = A \text{ пробы} \times 243$$

Для каждого прибора необходимо уточнить коэффициент (фактор) по стандарту (калибратору) билирубина, так как возможно различие в фильтрах, длине оптического пути и т.д.

Для калибровки можно использовать стандарт билирубина производства «ПАРМА ДИАГНОСТИКА» или аналогичные калибраторы и стандарты билирубина других изготовителей.

Если концентрация билирубина в пробе превышает 300 мкмоль/л, образец развести дистиллированной водой в 2 раза, анализ повторить, полученный результат умножить на 2.

**НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ**

Общий билирубин 7,5-20,5 мкмоль/л

Прямой билирубин 1,6-6,2 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 (500-560)
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	18-25 °С
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Фактор	243*
Соотношение реагент/проба, (мкл/мкл)	9:1
Время реакции, сек	0
Верхний предел абсорбции реагента против воды, А	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, А	0,0
Границы линейности, г/л	3-300
Максимум нормы, г/л	20,55**
Минимум нормы, г/л	7,5**

**Примечания**

\* Фактор рассчитан по результатам анализа калибраторов билирубина и контрольных сывороток на длине волны 540 нм и спектрофотометре СФ-46. Для каждого анализатора следует уточнить фактор пересчета по контрольным сывороточным калибраторам, аттестованным данным методом.

\*\* Приведены нормальные величины для общего билирубина.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins // Biochem. Z. 1938. Vol. 297. P. 81–93.
- 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.

## БИЛИРУБИН ОБЩИЙ И ПРЯМОЙ ПАРМА (по стандарту)

Набор реагентов для количественного определения содержания общего и прямого билирубина в сыворотке крови колориметрическим методом Ендрассика-Грофа.

Код № 20713 - 5x100 мл

РУ № ФСР 2009/05668 от 15/09/2009 г.

Приказ № 7239-Пр/09 от 15/09/2009 г.

### ПРИНЦИП

Билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой в присутствии акселератора реакции кофеина (общий билирубин) и в отсутствие акселератора (прямой билирубин) с образованием азобилирубина – продукта, окрашенного в красный цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации билирубина в пробе.

### СОСТАВ НАБОРА И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

<b>Реагент 1 (P1)</b> Кофеин	Кофеин Бензоат натрия	1,2 моль/л
<b>Реагент 2 (P2)</b> Сульфаниловая кислота	Сульфаниловая кислота Соляная кислота	0,12 ммоль/л 7 ммоль/л
<b>Реагент 3 (P3)</b> Нитрит натрия	Нитрит натрия	2,5 ммоль/л
<b>Стандарт 2 мл</b>	Билирубин	80 мкмоль/л*

\* Точная концентрация стандарта указана на этикетке флакона.

Набор необходимо хранить в упаковке предприятия изготовителя при 2-8°C в течение всего срока годности – 18 месяцев.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ

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

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты 1, 2 и 3 готовы к использованию. Реагенты после вскрытия стабильны до конца срока годности набора при 18-25°C.

**Приготовление диазореагента.** Смешать реагенты 2 и 3 в соотношении 4:1. Диазореагент стабилен в течение 1 дня в посуде из темного стекла при 18-25°C.

**Приготовление калибровочного раствора билирубина.** Во флакон со стандартом добавить точно 2,00 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном перемешивании. Раствор калибратора неустойчив, его необходимо хранить в защищенном от света месте не более 5 дней при 2-8°C или в течение 3 недель в замороженном состоянии.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность от 3 мкмоль/л до 300 мкмоль/л.

Коэффициент вариации – не более 10%.

### ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Свежая сыворотка крови, свободная от гемолиза.

### ПРОЦЕДУРА

Длина волны : 540 нм (520-560) нм

Оптический путь : 1 см

Температура : 20 -25°C

Холостая проба : индивидуальная для каждой сыворотки.

Внести:	Опытная проба Общий билирубин	Опытная проба Прямой билирубин	Холостая проба	Калибровочная проба	Холостая проба для стандарта
Реагент 1	800 мкл	–	–	800 мкл	
Диазореагент	100 мкл	100 мкл	–	100 мкл	
Физраствор	–	800 мкл	900 мкл	–	900
Сыворотка	100 мкл	100 мкл	100 мкл	–	–

Стандарт	–	–	–	100 мкл	100 мкл
----------	---	---	---	---------	---------

Перемешать, инкубировать при комнатной температуре.

Прямой билирубин: точно через 5 мин. измерить оптическую плотность каждой пробы (А пробы) против собственной холостой пробы.

Общий билирубин: через 20 мин. измерить оптическую плотность каждой пробы (А пробы) против собственной холостой пробы.

#### РАСЧЕТ

$$C = C \text{ стандарта} \times \frac{A \text{ пробы}}{A \text{ стандарта}}$$

Если концентрация билирубина в пробе превышает 300 мкмоль/л, образец развести дистиллированной водой в 2 раза, анализ повторить, полученный результат умножить на 2.

#### НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Общий билирубин 7,5-20,5 мкмоль/л

Прямой билирубин 1,6-6,2 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 (500-560)
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	18-25 °С
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, мкмоль/л,	*
Соотношение реагент/проба, (мкл/мкл)	9:1
Время реакции, сек	0
Верхний предел абсорбции реагента против воды, А	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, А	0,0
Границы линейности. г/л	3-300
Максимум нормы, г/л	20,55**
Минимум нормы, г/л	7,5**

#### Примечания

\* Значение концентрации билирубина указано на этикетке флакона со стандартом.

\*\* Приведены нормальные величины для общего билирубина.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins // Biochem. Z. 1938. Vol. 297. P. 81–93.
- 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.