БИЛИРУБИН ОБЩИЙ И ПРЯМОЙ ПАРМА

Набор реагентов для определения содержания общего и прямого билирубина в сыворотке крови.

Код №	Фасовка (мл)	Количество определений (1000/200 мкл)
50713	**1x100, 1x20, 1x5, 1x10**	**100+100/500+500**
20713	**4x100, 1x80, 1x20, 1x40**	**400+400/2000+2000**

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

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

Реагент 1 (Р1) Кофеин	Кофеин Бензоат натрия	8 г/л
Реагент 2 (Р2) Сульфаниловая кислота	Сульфаниловая кислота Соляная кислота	5 г/л 50 мл/л
Реагент 3 (Р3) Нитрит натрия	Нитрит натрия	2,5 г/л
Стандарт 2 мл	Билирубин	80 мкмоль/л*

* Точная концентрация стандарта указана на этикетке флакона.

Набор необходимо хранить в упаковке предприятия изготовителя при 2-8°С 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°С.

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°С.

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 при 2-8°С или в течение 3 недель в замороженном состоянии.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность от 5 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°С

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 мкл
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. №№ C-310-5 и C-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	5-300
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

5. Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins // Biochem. Z. 1938. Vol. 297. P. 81–93.
6. 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.