

BILIRUBIN TOTAL

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00010	BIL T 200	R1: 4 x 50 ml, R2: 1 x 6 ml



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of Bilirubin Total in human serum and plasma.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is a breakdown product of haemoglobin. Bilirubin formed in the reticulo endothelial system is transported bound by albumin to the liver. This bilirubin is water insoluble and is known as indirect or unconjugated bilirubin. In the liver, bilirubin is conjugated to glucuronic acid to form direct bilirubin. Conjugated bilirubin is excreted via the biliary system into the intestine. Here it is metabolised by bacteria to urobilinogen and stercobilinogen.

TOTAL BILIRUBIN = INDIRECT BILIRUBIN + DIRECT BILIRUBIN

Total Bilirubin is elevated in obstructive conditions of the bile duct, hepatitis, cirrhosis, in haemolytic disorders and several inherited enzyme deficiencies.

Indirect Bilirubin is elevated by pre-hepatic causes such as haemolytic disorders or liver diseases resulting in impaired entry transport or conjugation within the liver. Monitoring of indirect bilirubin in neonates is of special importance as it is the indirect (or free) bilirubin bound to albumin that is able to cross the blood brain barrier more easily increasing the danger of cerebral damage.

PRINCIPLE

Modified method of Pearlman & Lee in which a surfactant is used as a solubilizer. Bilirubin glucuronate reacts directly with sulphodiazonium salt and forms coloured derivative azobilirubin. The colour intensity of formed azobilirubin measured at 540 - 550 nm is proportional to direct bilirubin concentration in the sample.

REAGENT COMPOSITION

R1

Sulphanilic Acid	4.62 mmol/l
HCl	117.6 mmol/l
Cetrimonium Bromide	27.44 mmol/l

R2

Sodium Nitrite	145 mmol/l
----------------	------------

REAGENT PREPARATION

Test	Volume of working Reagent	Add	
		Reagent 1	Reagent 2
Bilirubin Total	10 ml	10 ml	0.20 ml
	25 ml	25 ml	0.50 ml
	50 ml	50 ml	1.00 ml
	100 ml	100 ml	2.00 ml

WORKING REAGENT STABILITY

The working reagent is stable for 7 days at 2–8°C, when protected from contamination and light. It is recommended to prepare fresh working solution before assay is performed.

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Use unheamolytic serum or plasma (heparin, EDTA).

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Stability:
1 day at 15–25°C
7 days at 2–8°C
3 month at -20°C
Freeze only once!

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

Calibration with the factor (see ASSAY PARAMETERS table) or with calibrator XL MULTICAL, Cat. No. XSYS0034 is recommended.

QUALITY CONTROL

For quality control ERBA NORM, Cat. No. BLT00080 and ERBA PATH, Cat. No. BLT00081 are recommended.

UNIT CONVERSION

mg/dl x 16.95 = µmol/l

EXPECTED VALUES³

Adults: 0 – 2.0 mg/dl
Cord < 2 mg/dl

Newborns, premature:

0 – 1 d 1.0 – 8.0 mg/dl
1 – 2 d 6.0 – 12.0 mg/dl
3 – 5 d 10.0 – 14.0 mg/dl

Newborns, full term:

0 – 1 d 2.0 – 6.0 mg/dl
1 – 2 d 6.0 – 10.0 mg/dl
3 – 5 d 4.0 – 8.0 mg/dl

It is recommended that each laboratory verify this range or derives reference interval for the population it serves.

PERFORMANCE DATA

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification: 0.08 mg/dl
Linearity: 23 mg/dl
Measuring range: 0.08 – 23 mg/dl

Intra-assay precision Within run (n=20)	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	1.58	0.015	0.93
Sample 2	3.90	0.035	0.90

Inter-assay precision Run to run (n=20)	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	1.36	0.023	1.67
Sample 2	5.23	0.068	1.31

COMPARISON

A comparison between XL-Systems Bilirubin Total (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results:

y = 1.091 x - 0.087 mg/dl

r = 0.992

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:
haemoglobin up to 7.5 g/l, triglycerides up to 1500 mg/dl.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagent 1 contains 1% cetrimonium bromide and is classified as eye and skin irritant.



Warning

Hazard statement:

H315 Causes skin irritation.

H319 Causes serious eye irritation.

Precautionary statement:

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.

P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes.

Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

Reagent 2 contains <0.1 sodium azide which is toxic and dangerous to the environment.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

ASSAY PROCEDURE

Wavelength 546/630 (670) nm
Cuvette 1 cm

	Reagent blank	Standard (Cal.)	Sample
Working reagent	0.500 ml	0.500 ml	0.500 ml
Sample	-	-	0.025 ml
Standard (Cal.)	-	0.025 ml	-
Distilled water	0.025 ml	-	-

Mix and incubate 5 min. at 37 °C. Measure absorbance of the sample A_{sam} and standard A_{st} against reagent blank.

CALCULATION

$$1. \text{ Total Bilirubin (mg/dl)} = \frac{\Delta A_{sam}}{\Delta A_{st}} \times C_{cal} \quad C_{cal} = \text{calibrator concentration}$$

2. Using factor:

Total Bilirubin (mg/dl) = f x ΔA

f = factor (see ASSAY PARAMETERS table)

Applications for automatic analysers are available on request.

ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

Mode	End Point
Wavelength 1 (nm)	546
Wavelength 2 (nm)	630 (670)
Sample Volume (µl)	25/50
Working Reagent Volume (µl)	500/1000
Incubation time (min.)	5
Incubation temp. (°C)	37
Normal Low	0
Normal High	2
Linearity Low	0
Linearity High	20
Factor	23 (21)*
Blank with	Reagent
Absorbance limit (max.)	0.2
Units	mg/dl

* 23 at 546 / 630, 21 at 546 / 670



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

БИЛИРУБИН ОБЩИЙ

Кат. №	Название на упаковке	Фасовка
BLT00010	БИЛ ОБ 200	R1: 4 x 50 мл, R2: 1 x 6 мл



Применение

Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики общего билирубина в сыворотке и плазме человека.

Клиническое значение

Билирубин – продукт распада гемоглобина. Билирубин плохо растворим в воде, поэтому в свободном виде не присутствует в плазме крови. Для транспортирования в крови от селезенки к печени он образует комплекс с альбумином и называется конъюгированный (непрямой) билирубин. В печени происходит конъюгация билирубина с глюкуроновой кислотой, образуется прямой (конъюгированный) билирубин, который дальше экскретируется в желчные протоки.

Общий Билирубин = Непрямой Билирубин + Прямой Билирубин

Общий Билирубин повышается при закупорке внутри и внепеченочных желчных протоков, повреждениях печеночных клеток, при физиологической желтухе у новорожденных из-за увеличенного послеродового разрушения эритроцитов и недоразвитой системой ферментов для метаболизма билирубина. Мониторинг непрямого билирубина очень важен в неонатологии, т.к. это может приводить к повреждениям мозга.

Прямой Билирубин повышается при закупорке внутри и внепеченочных желчных протоков, повреждениях печеночных клеток (особенно на поздних стадиях заболевания), холестазах.

Принцип реакции

Диазометод Pearlman & Lee.

Билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой в кислой среде, в присутствии цетримида. В результате реакции образуется продукт красного цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации общего билирубина и измеряется фотометрически при 540-550 нм.

Состав реагентов

R 1

Сульфаниловая кислота	4,62 ммоль/л
HCl	117,6 ммоль/л
Цетримония бромид	27,44 ммоль/л

R 2

Нитрит натрия	145 ммоль/л
---------------	-------------

Проведение анализа

Тест	Объем рабочего реагента	Добавить	
		Реагент 1	Реагент 2
Билирубин общий	10 мл	10 мл	0,20 мл
	25 мл	25 мл	0,50 мл
	50 мл	50 мл	1,00 мл
	100 мл	100 мл	2,00 мл

Хранение и стабильность рабочих реагентов

Не вскрытые Реагенты 1, 2 стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при 2–8°C, в защищенном от света месте.

Рабочий Реагент Билирубин Общий стабилен 7 дней, если хранятся при 2–8°C, в защищенном от света месте.

Образцы

Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная, ЭДТА плазма.

Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов).

Стабильность:

1 день при	15–25 °C
7 дней при	2–8 °C
3 месяца при	-20 °C

Замораживать только один раз!

Загрязненные образцы не использовать.

Калибровка

Мы рекомендуем для калибровки использовать фактор или XL МУЛЬТИКАЛ, Кат. № XSYS0034.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуются контрольные сыворотки: ЭРБА НОРМА, Кат. No. BLT00080, ЭРБА ПАТОЛОГИЯ, Кат. No. BLT00081.

Коэффициент пересчета

(мг/дл) x 16,95 = мкмоль/л

Нормальные величины³

Билирубин общий

Взрослые: 0 – 2,0 мг/дл (0 – 33,9 мкмоль/л)

Пуповинная кровь < 2 мг/дл (33,9 мкмоль/л)

Новорожденные недоношенные:

0 - 1 день 1,0 – 8,0 мг/дл (16,95 – 135,6 мкмоль/л)

1 - 2 дня 6,0 – 12,0 мг/дл (101,7 – 203,4 мкмоль/л)

3 - 5 дней 10,0 – 14,0 мг/дл (169,5 – 237,3 мкмоль/л)

Новорожденные, родившийся в срок:

0 - 1 день 2,0 – 6,0 мг/дл (33,9 – 101,7 мкмоль/л)

1 - 2 дня 6,0 – 10,0 мг/дл (101,7 – 169,5 мкмоль/л)

3 - 5 дней 4,0 – 8,0 мг/дл (67,8 – 135,6 мкмоль/л)

Приведенные величины следует рассматривать как ориентировочные.

Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Значения величин

Эти значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах серии ERBA XL. Результаты могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.

Чувствительность: 0,08 мг/дл (1,36 мкмоль/л)

Линейность: до 23 мг/дл (390 мкмоль/л)

Диапазон измерений: 0,08 – 23 мг/дл (1,36 – 390 мкмоль/л)

Воспроизводимость

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV %
Образец 1	20	1,58	0,015	0,93
Образец 2	20	3,90	0,035	0,90

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV %
Образец 1	20	1,36	0,023	1,67
Образец 2	20	5,23	0,068	1,31

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: Билирубин общий(у) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (х).

Результаты: $y = 1,091x - 0,087$ (мг/дл) $r = 0,992$

Специфичность/Влияющие вещества

Не влияют на результаты анализа: Гемоглобин до 7,5 г/л, Триглицериды до 1500 мг/дл.

Меры предосторожности

Только для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагент 1 содержит 1% цетримония бромид и классифицируется как раздражение глаз и кожи.

Обозначение опасности:

H315 Вызывает раздражение кожи.

H319 Вызывает серьезное раздражение глаз.

Меры предосторожности:

P280 Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз.

P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ:

Промыть большим количеством воды.

P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза

водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.

Реагент 2 содержит <0,1 азид натрия, который является токсичным и опасным для окружающей среды.



Предупреждение

Утилизация использованных материалов

В соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материала.

Проведение анализа

Длина волны: 546/630 (670) нм

Оптический путь: 1 см

Температура: 37 °C

Измерение: против реагента сравнения (бланк).

Пипетирование	Бланк	Стандарт/ Калибратор	Образец
Реагент	500 мкл	500 мкл	500 мкл
Дистил. вода	25 мкл	--	--
Стандарт/Калибратор	--	25 мкл	--
Образец	--	--	25 мкл

Инкубировать 5 мин при 37°C. Измерить поглощение калибратора и образца при 546/630нм против бланка по реагенту.

Стандарт/Калибратор - не входит в состав набора

Расчет по калибратору

$$\text{Билирубин общий (мг/дл)} = \frac{\Delta A_{\text{обр.}}}{\Delta A_{\text{кал.}}} \times \text{конц. Кал. (мг/дл)}$$

Расчет по фактору:

Билирубин общий (мг/дл) = $\Delta A \times 23$ (21) (Фактор)*

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Параметры для работы на анализаторе

Метод	Конечная точка
Длина волны 1 (нм)	546
Длина волны 2 (нм)	630 (670)
Объем образца (мкл)	25/50
Объем реагент (мкл)	500/1000
Время инкубации (мин)	5
Температура инкубации (°C)	37
Нижний предел нормы (мг/дл)	0
Верхний предел нормы (мг/дл)	2
Нижний предел линейности (мг/дл)	0
Верхний предел линейности (мг/дл)	20
Концентрация стандарта (мг/дл)	23 (21)*
Бланк по	Реагенту
Начальное поглощение реагента (Макс.)	0,2
Единицы	мг/дл

*23 при 546/630, *21 при 546/670

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Pearlman, P.C. & Lee, R.T. Clin. Chem. (1974), 20: 447.
2. Henry, R. J. (Ed), Clinical Chemistry: Principles and Techniques (2nd Ed.) Harper and Row (1974). P. 1042.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E.; 5th edition, WB Saunders Comp., 2012.

SYMBOLS USED ON LABELS / СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ



Catalogue Number
Каталожный №



Manufacturer
Производитель



See Instruction for Use
Смотреть инструкцию
при использовании



Lot Number
Серия



CE Mark - Device comply with
the Directive 98/79/EC
Знак CE - соответствие
Директиве 98/79/EC



Storage Temperature
Соблюдать температуру хранения



Expiry Date
Срок годности



In Vitro Diagnostics
Для in vitro диагностики



Content / Содержание



Национальный знак
соответствия для Украины
Ukrainian quality mark

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com