



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-15796482-001:2003

Bili D - DAC.Lq

БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ. ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД C DSA

Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

Код 3004B100 100 ml
Код 3004B500 500 ml

ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямой билирубин, в присутствии диазоновой соли сульфаниловой кислоты (DSA), образует азоккомплекс красного цвета. Интенсивность окраски, измеренной при 540(±10) nm, прямо пропорциональна концентрации билирубина^{1,2}.

СОСТАВ НАБОРА

	Код	3004B100	3004B500
Reagent AD		100 ml	2x250 ml
Сульфаниловая кислота	30 mmol/l		
Соляная кислота	0,2 mol/l		
Reagent B	4 ml	20 ml	
Нитрит натрия	29 mmol/l		
Bilirubin Standard	-	5 ml	
Концентрация билирубина указана на этикетке флакона			

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты при 2-8°C стабильны до срока, указанного на этикетке.
Признаки непригодности: присутствие взвеси, мутность, абсорбция более 0,03 при 540(±10) nm (кювета 1 cm).

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка. Хранить в защищенном от света месте.
Билирубин в сыворотке стабилен 3 месяца при -20°C, 4 суток при 2-8°C, 1 сутки при 15-25°C.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Взрослые: до 0,2 mg/dl = 3,4 µmol/l.
Приведенные референтные величины ориентировочны.
Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные референтные величины.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические контрольные сыворотки. Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или фотометр с фильтром 540(±10) nm. Термостат 37°C. Кюветы 1cm (при использовании коэффициента пересчета). Дозаторы на 50, 100 µl и 1,5 ml. Таймер.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.
Образцы должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Реагенты готовы к использованию.
Для образцов рекомендуется готовить **Рабочий реактив:** 30 ml Reagent AD + 1 ml Reagent B.
Раствор стабилен не менее 10 дней при 2-8°C.
Для индивидуального бланка использовать Reagent AD.

Bilirubin Standard: откройте флакон, избегая потери лиофилизованного материала, внесите во флакон точно 5,00 ml дистиллированной воды. Закройте флакон пробкой и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (15-30°C). Аккуратно вращайте флакон не допуская образования пены до полного растворения содержимого. **Встряхивание недопустимо!**
Билирубин в растворенном Bilirubin Standard при хранении в темноте стабилен: 4 часа при +25°C, 6 часов при +4°C, 2 недели при -20°C. **Повторное замораживание недопустимо!**

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: конечная точка
Длина волны: 540(±10) nm
Длина оптического пути: 1 cm
Температура: 37°C
Бланк: Индивидуальный

1. Поместите в маркированные пробирки (Примечание):

	Индивидуальный Бланк	Образец / Стандарт
Reagent AD, ml	1,5	1,5
Образец/Стандарт, µl	100	100
Reagent B, µl	-	50

NB: Объемы реагентов, стандарта и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы используемого анализатора.
2. Содержимое пробирок тщательно перемешайте и инкубируйте точно 5,0 min при 37°C.

3. Учите Абсорбцию Образца (A_o) или Стандарта (A_{st}) при длине волны 540(±10) nm против Индивидуального Бланка Образца или Стандарта.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Концентрация билирубина в образце вычисляется по формуле:

$$\frac{A_o}{A_{st}} \times C_{st} = C_o$$

Единицы СИ: mg/dl билирубина = µmol/l билирубина : 17,1.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел определения: 0,05 mg/dl = 0,85 µmol/l.

Предел линейности: до 15 mg/dl = 257 µmol/l.

Для более высоких значений разведите образец физиологическим раствором 1+3, повторите определение, результат умножьте на 4 (коэффициент разведения).

Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV*	n*
0,59 mg/dl = 10,1 µmol/l	3%	20
6,74 mg/dl = 115,2 µmol/l	1%	20

Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV*	n*
0,81 mg/dl = 13,8 µmol/l	7,1%	25
1,41 mg/dl = 24,1 µmol/l	6,3%	25

* CV – коэффициент вариации; n – количество определений.

Чувствительность: 48mА x dl/mg = 2,81 mА x l/µmol/l.

Интерференция:

Гемоглобин до 10 г/l не влияет на ход определения.
Липемия (триглицериды выше 5 mg/dl) может повлиять на результат. На ход определения также оказывают влияние некоторые лекарственные препараты⁴
Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Билирубин является продуктом распада темной части гема, высвобождающегося из стареющих или поврежденных эритроцитов, которые разрушаются в ретикулоэндотелиальной системе. Затем билирубин транспортируется в печень с альбумином. Внутри гепатоцитов билирубин связывается с глюкуроновой кислотой и экскретируется в желчь.
Существуют наследственные и приобретенные заболевания, при которых нарушается синтез, связывание, метаболизм и экскреция билирубина, приводя к гипербилирубинемии^{3,5}.
Гипербилирубинемия несвязанного билирубина наблюдается у новорожденных (физиологическая желтуха), при повышенном разрушении эритроцитов (гемолитическая анемия, обширные гематомы), при неэффективном эритропоэзе и при некоторых редких генетических заболеваниях (синдром Жильбера, Синдром Криглера-Найяра).

Гипербилирубинемия связанного билирубина вызвана пониженной экскрецией желчи при поражении печени (гепатит, цирроз), внутрипеченочном или внепеченочном холестазе.
Клинический диагноз должен устанавливаться на основе интеграции клинических и лабораторных данных.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64
Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920 Email:

office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-15796482-001:2003

Bili D - DAC.Lq

БИЛИРУБИНА ДИРЕКТĂ FOTOMETRIC ACID SULFANILIC DIAZOTAT

Numai pentru diagnosticare «in vitro»

A se păstra la 2-8°C

Cod 3004B100 100 ml
Cod 3004B500 500 ml

PRINCIPIUL METODEI

Bilirubina directă din probă reacţionează cu acidul sulfanilic diazotat formînd un complex de culoare roşie. Intensitatea culorii, măsurată la 540(±10) nm, este direct proporţională cu concentraţia bilirubinei^{1,2}.

COMPONENŢA SETULUI

Reagent AD	cod	3004B100	3004B500
Acid sulfanilic	30 mmol/l	100 ml	2x250 ml
Acid clorhidric	0,2 mol/l		
Reagent B	4 ml	20 ml	
Nitrit de sodiu	29 mmol/l		
Bilirubin Standard	-	5 ml	
Concentraţia bilirubinei este indicată pe eticheta flaconului.			

PĂSTRAREA ŞI STABILITATEA REAGENŢILOR

Reagenţii sunt stabili la 2-8°C pînă la data indicată pe etichetă.
Semne de deteriorare: prezenţa particulelor materiale, turbiditate, absorbţia peste 0,03 la 540(±10) nm (cuva 1 cm).

PROBE

Ser. A se păstra la întuneric. Bilirubina în ser este stabilă la -20°C 3 luni, la 2-8°C 4 zile şi la 15-25°C 1 zi.

VALORI DE REFERINŢĂ

Maturi: pînă la 0,2 mg/dl = 3,4 µmol/l.
Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referinţă în laboratorul dat.

CONTROLUL CALITĂŢII

Pentru controlul mersului reacţiei şi a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale şi patologice pentru control.
Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIŢIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtrul 540(±10) nm. Термостат 37°C. Cuvă 1cm (la utilizarea coeficientului de recalculare). Dozatoare 50, 100 µl şi 1,5 ml. Taimer.

PRECAUŢII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro.
Probele pacienţilor vor fi considerate ca material potenţial contagios şi se vor prelucra analogic celor contagioase. La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanţe toxice.

PREPARAREA REAGENŢILOR DE LUCRU

Reagenţii sunt gata de utilizare.
Pentru proba recomandă de pregătit Reactivul de lucru din calculele 30 ml Reagent AD + 1 ml Reagent B.
Soluţia este stabilă nu mai puţin de 10 zile la 2-8°C.

Pentru blanc individual de folosit Reagent AD.
Bilirubin Standard: deschideţi flaconul evitînd pierderea materialului liofilizat, introduceţi în flacon apă distilată exact 5,00 ml. Închideţi flaconul cu dop şi incubaţi decurs de 30 minute la temperatura camerei (15-30°C).

Atenţi roţiţi flaconul şi preveniţi formarea spumei pînă la dizolvarea completă a conţinutului. **Agitaţia este interzisă!**
Bilirubina în Bilirubin Standard dizolvat la păstrarea în întuneric este

stabilă: 4 ore la +25°C, 6 ore la +4°C, 2 săptămîni la -20°C. **Recongelarea este interzisă!**

METODA DE LUCRU

Metoda: punct final
Lungimea de undă: 540(±10) nm
Lungimea drumului optic: 1 cm
Temperatura: 37°C
Instalarea zero: după blanc individual

1. Se va pipeta în eprubetele marcate (Note):

	Blanc individual	Proba/Standard
Reagent AD, ml	1,5	1,5
Proba/Standard, µl	100	100
Reagent B, µl	-	50

NB: Volumul reagentului, standardului şi probei pot fi schimbate proporţional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului folosit.
2. Se va amesteca bine, se va incuba strict 5,0 minute la 37°C.

3. Se va nota absorbţia Probei (A_o) şi Standardului (A_{st}) la 540 (±10) nm contra Blancului Individual al Probei şi Standardului.

CALCUL

Concentraţia bilirubinei în probă se calculează conform formulei:

$$\frac{A_o}{A_{st}} \times C_{st} = C_o$$

Unităţi SI: mg/dl bilirubină=µmol/l bilirubină: 17,1.

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita determinării: 0,05 mg/dl = 0,85 µmol/l.

Limita linearităţii: pînă la 15 mg/dl = 257 µmol/l.

Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluţie fiziologică în raportul 1+3 şi se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulţi la 4 (coeficientul de diluţie).

Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentraţia medie	CV*	n*
0,59 mg/dl = 10,1 µmol/l	3%	20
6,74 mg/dl = 115,2 µmol/l	1%	20

Reproductibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentraţia medie	CV*	n*
0,81 mg/dl = 13,8 µmol/l	7,1%	25
1,41 mg/dl = 24,1 µmol/l	6,3%	25

* CV – coeficientul de variaţie; n – numărul de determinare.

Sensibilitatea: 48mА x dl/mg = 2,81 mА x l/µmol/l.

Interferenţe:

Hemoglobina pînă la 10 g/l nu influenţează rezultatul.
Lipemia (trigliceride peste 5 mg/dl) influenţează rezultatul.
Se va ţine cont de posibila interferenţă medicamentoasă, cit şi de interferenţa altor substanţe⁴
Aceste caracteristici metrologice au fost obţinute la utilizarea analizorului. Rezultatele pot varia în dependenţă de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Bilirubina este produsul scindării porţiunii întunecate a hemului, provine din degradarea eritrocitelor îmbătrinite sau lezate, care se distrug în sistemul reticuloendotelial. Bilirubina este transportată în ficat cu albumina, reacţionează cu acidul glucuronic din interiorul hepatocitelor şi se excretează în bilă.
Bolile însoţite de dereglarea sintezei, conjugare, metabolism şi excreţia bilirubinei care în fine duc la hiperbilirubenemia^{3,5} pot fi congenitale cit şi dobîndite.
Hiperbilirubenemia neconjugată se atestă la nou-născuţi (icter fiziologic), în cazul degradării sporite a eritrocitelor (anemie hemolitică, gematome extinse), eritropoieză cit şi în cazul unor boli genetice (синдром Gilbert, синтом Криглер-Найяр).
Hiperbilirubenemia conjugată este provocată de excreţia redusă a bilei în caz de afecţiuni ale ficatului (hepatită, ciroză), colestază intra sau extrahepatică.
Diagnosticul clinic se va stabili în baza integrării datelor clinice şi de laborator.



DAC-SpectroMed s.r.l.

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
 Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com
 PT MD 11-15796482-001:2003

Bili D – DAC.Lq

DIRECT BILIRUBIN DSA METHOD

For « in vitro » use only
 Store at 2-8°C

Cod 3004B100 100 ml
 Cod 3004B500 500 ml

PRINCIPLE

Direct bilirubin in the sample reacts with diazotized sulfanilic acid (DSA) forming a colored complex that can be measured by spectrophotometer. The intensity of coloration, measured at 540(±10) nm, is proportional to direct bilirubin.

CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent AD
 Sulfanilic acid 30 mmol/l
 Hydrochloric acid 0.2 mol/l
 Reagent B
 Sodium nitrite 29 mmol/l

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Store reagents at 2-8°C and use until the expiry date shown on the label.

Symptoms of reagent unusability: presence of dredge, turbidity, blank absorption more than 0,03 at 540(±10) nm (1 cm cuvettes).

SAMPLES

Serum. Store protected from the light.
 Bilirubin in serum is stable within 3 months at -20°C, 4 days at 2-8°C, 1 day at 15-25°C.

REFERENCE VALUES

Adults³: Up to 0.2 mg/dl = 3.4 µmol/l.
 These values are approximate, it is recommended that each laboratory should establish its own reference values.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Control Serum level I end II to verify the performance of the measurement procedure.
 Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

ADDITIONAL EQUIPMENT AND REAGENTS

Analyzer, spectrophotometer or photometer with filter 540(±10) nm
 Cuvettes with 1 cm light path. Thermostate for 37° C. Timer.
 Bilirubin Standard. Dropper for 50 µl, 100 µl and 1,5 ml.

PRECAUTION

The kit is only for in vitro use.
 All specimens must be considered potentially hazardous and handled as infectious.

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.
 Working Reagent preparation: 30 ml Reagent AD+1 ml Reagent B.
 Mix thoroughly. Stable for 10 days at 2-8°C.
 Sample Blank - Reagent **AD**.

NOTE

Calibration with the factor or with the aqueous standard may cause bias. In these cases, it is recommended to calibrate using a serum based standard (Multi St-DAC cod 2051M5).

PROCEDURE

Method: end point
 Wavelength: 540(±10) nm
 Temperature: 37°C
 Cuvette: 1 cm light path
 Read against: Sample Blank

1. Pipette into labeled test tubes (Note):

	Sample Blank	Sample/ Standard
Reagent AD, ml	1,5	1,5
Sample/ Standard, µl	100	100
Reagent B, µl	-	50

NB: *Volumes of reagent, standard and samples can be proportionally changed according to the cells working volumes of using analyzers.*

- Mix thoroughly and let the tubes stand for exactly 5 min at 37°C.
- Read the absorbance (As) of the Sample/Standard at 540(±10) nm against the Sample Blank.

CALCULATIONS

For the calculation of direct bilirubin concentrations in sample, calculate the difference between absorbencies of Sample (As) and Blank (Ab) for direct (DB) bilirubin.

Using these values, and calibration curve, plotted under total bilirubin standards, determine values of total and direct bilirubin.

SI UNITS: mg/dl direct bilirubin = µmol/l direct bilirubin : 17,1

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Sensitivity limit: 0.05 mg/dl = 0.85 µmol/l

Linearity limit: 15 mg/dl = 257 µmol/l

At higher concentration dilute sample with distilled water 1:3 and repeat the measurement.

Repetition (within period):

Mean concentration	CV*	n*
0,59 mg/dl = 10,1 µmol/l	3%	20
6,74 mg/dl = 115,2 µmol/l	1%	20

Reproducibility (from period to period):

Mean concentration	CV*	n*
0,81 mg/dl = 13,8 µmol/l	7,1%	25
1,41 mg/dl = 24,1 µmol/l	6,3%	25

* CV - coefficient of variation n – number of determinations

Sensitivity: 48 mA . dl/mg = 2,81 mA l/µmol.

Interference:

Hemoglobin (10 g/l) does not interfere. Lipemia (triglycerides > 5 g/l) interfere. Other substances and drugs may interfere⁴.

These metrological characteristics were received using analyzer. Results may vary depending on equipment or procedure used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Bilirubin is a waste product derived from the heme moiety of the hemoglobin released from senescent or damaged erythrocytes that are destroyed in the reticuloendothelial cells. After production, bilirubin is transported to the liver in association with albumin. Inside the hepatocytes bilirubin is conjugated with glucuronic acid and it is excreted into bile.

A number of inherited and acquired diseases affect production, uptake, metabolism, and excretion of bilirubin, resulting in hyperbilirubinemia^{3,5}.

Unconjugated hyperbilirubinemia is seen in newborns (physiological jaundice), in increased red cell destruction (hemolytic anemia, extensive hematoma), in ineffective erythropoiesis and in some rare genetic diseases (Gilbert's syndrome, Crigler-Najjar syndrome).

Conjugated hyperbilirubinemia is associated to a decreased excretion of bile due to liver diseases (hepatitis or cirrhosis) or to intrahepatic or extrahepatic cholestasis.

Jaundice is a clinical manifestation of hyperbilirubinemia, consisting of deposition of bile pigments in the skin, resulting in a yellowish staining of the skin and mucous membranes.

Clinical diagnosis must be made on integration of clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

- Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
- Zoppi F, Peracino A, Fenili D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giorn It Chim Cl 1976; 1:343-359.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.