



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Молдова, 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 DT - DAC.Lq

БИЛУРУБИН ПРЯМОЙ И ОБЩИЙ

ДИАЗОТИРОВАННЫЙ СУЛЬФАНИЛОВЫЙ (DSA) МЕТОД С DMSO

Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

Код 3005B200 100+100 ml
 Код 3005B1000 500+500 ml

ПРИНЦИП МЕТОДА

В присутствии диазозовой соли сульфаниловой кислоты прямой билирубин образует азоксольный комплекс красного цвета. Для определения общего (прямой + непрямой) билирубина в качестве растворителя используется диметилсульфоксид. Интенсивность окраски, измеренной при 540(±10) nm, прямо пропорциональна концентрации билирубина^{1,2}.

СОСТАВ НАБОРА

	Код	3005B200	3005B1000
Reagent AD		100 ml	2x250 ml
Сульфаниловая кислота	30 mmol/l		
Соляная кислота	0,2 mol/l		
Reagent AT		100 ml	2x250 ml
Сульфаниловая кислота	30 mmol/l		
Соляная кислота	50 mmol/l		
Диметилсульфоксид	7 mol/l		
Reagent B		8 ml	2x20 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.

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: Общий билирубин: до 1,1 mg/dl = 18,8 µmol/l.
 Прямой билирубин: до 0,2 mg/dl = 3,4 µmol/l.
 Приведенные референтные величины ориентировочны. Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные референтные величины.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или фотометр с фильтром 540(±10) nm. Термостат 37°C. 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. При использовании набора следует соблюдать правила безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Реагенты готовы к использованию.
 Bilirubin Standard: откройте флакон, избегая потери лиофилизированного 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 встряхните 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 пробирики:

Прямой билирубин:

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

Общий билирубин:

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

NB: Объемы реагентов, стандарта и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы и используемого анализатора.

2. Содержимое пробирок тщательно перемешайте и инкубируйте точно 5,0 min при 37°C.

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

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Концентрация прямого и общего 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.

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.

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 и умножьте результат на 4.
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.

Интерференция: Гемоглобин до 10 g/l не влияет на ход определения. Липемия (триглицериды выше 5 mg/dl) может повлиять на результат. На ход определения также оказывают влияние некоторые лекарственные препараты¹.

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. Гипербилирубинемия связанного билирубина вызвана пониженной экскрецией желчи при поражении печени (гепатит, цирроз), внутривеночном или внепеченочном холестазае.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64
 Tel.: +37322/ 574900; 574922/23; факс: +37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-15796482-001:2003

Bili DT - DAC.Lq

БИЛУРУБИНА ТОТАЛĂ ŞI DIRECTĂ

ACID SULFANILIC DIAZOTAT DMSO

Numai pentru diagnosticare «in vitro»

A se păstra la 2-8°C

Cod 3005B200 100+100 ml
 Cod 3005B1000 500+500 ml

PRINCIPIUL METODEI

Bilirubina directă, în prezența sării de diazoniu a acidului sulfanilic, formează un complex de culoare roşie. În calitatea de dizolvant la determinarea bilirubinei totale (directă şi indirectă) se utilizează dimetilsulfoxid. Intensitatea culorii, măsurată la 540(±10) nm, este direct proporţională concentraţiei de bilirubină^{1,2}.

COMPONENTA SETULUI

	Cod	3005B200	3005B1000
Reagent AD		100 ml	2x250 ml
Acid sulfonilic	30 mmol/l		
Acid clorhidric	0,2 mol/l		
Reagent AT		100 ml	2x250 ml
Acid sulfonilic	30 mmol/l		
Acid clorhidric	50 mmol/l		
Dimetilsulfoxid	7 mol/l		
Reagent B		8 ml	2x20 ml
Nitrit de sodiu	29 mmol/l		
Bilirubin Standard	-		5 ml
Concentrația bilirubinei este indicată pe eticheta flaconului.			

PĂSTRAREA ŞI STABILITATEA REAGENŢILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C până la data indicată pe etichetă. Semne de deteriorare: prezența particulelor materiale, turbiditate.

PROBE

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

VALORI DE REFERINŢĂ

Maturi: Bilirubină totală: până la 1,1 mg/dl = 18,8 µmol/l.
 Bilirubină directă: până la 0,2 mg/dl = 3,4 µmol/l.

Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIŢIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtrul 540(±10) nm. Termosta 37°C. Dozatoare 50, 100 µl și 1,5 ml. Taimer.

PRECAUŢII

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

PREPARAREA REAGENŢILOR DE LUCRU

Reagenții sunt gata de utilizare.
 Bilirubin Standard: deschideți flaconul evitând pierderea materialului liofilizat, introduceți în flacon apă distilată exact 5,00 ml. Închideți flaconul cu dop și incubați decurs de 30 minute la temperatura camerei (15-30 °C). Atenți: roțiți flaconul și preveniți formarea spumei până la dizolvarea completă a conținutului. **Agitația este interzisă!** Bilirubina în Bilirubin Standard dizolvat la păstrarea în întuneric este stabilă: 4 ore la +25 °C, 6 ore la +4 °C, 2 săptămâni la -20 °C. **Recongelarea este interzisă!**

BILOGRAPHY

1. Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total

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

Bilirubină directă:

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

Bilirubina totală

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

NB: Volumul reagentului, standardului și probei pot fi schimbate proporțional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului folosit.

2. Se va amesteca și se va incuba strict 5,0 minute la 37°C.
 3. Se va nota absorbția Probei (A_P) și Standardului (A_S) la 540(±10) nm contra Blancului Individual al Probei sau Standardului.

CALCULE

Concentrația bilirubinei directe și totale în probă se calculează conform formulei:

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

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

CONTROLUL CALITĂȚII

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

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita determinării: 0,05 mg/dl = 0,85 µmol/l.
 Limita linearității: până la 15 mg/dl = 257 µmol/l. Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluție fiziologică în raportul 1+3 și se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulți la 4
 Reproducibilitatea în limitele perioadei:

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

Reproducibilitatea de la perioada la perioada:

Concentrația 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 variație; n – numărul de determinări.

Interferențe: Hemoglobina până la 10 g/l nu influențează rezultatul. Lipemia (trigliceride peste 5 mg/dl) influențează rezultatul. Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe⁴.

Aceste caracteristici metrologice au fost obținute la utilizarea analizatorului. Rezultatele pot varia în dependență de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Bilirubina este produsul scindării porțiunii întinsecate a hemului, provine din degradarea eritrocitelor îmbătrinite sau lezate, care se distrug în sistemul reticuloendotelial. Bilirubina este transportată în ficat cu albumina, reacționează cu acidul glucuronic din interiorul hepatocitelor, și se excretează în bilă. Bolile însoțite de dereglarea sintezei, conjugare, metabolism și excreția bilirubinei care în fine duc la hiperbilirubinemia^{3,5} pot fi congenitale cit și dobândite. Hiperbilirubinemia conjugată este provocată de excreția redusă a bilei în caz de afecțiuni ale ficatului (hepatită, ciroză), colestază intra sau extrahepatică.



DAC-SPECTROMED SRL

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 DT – DAC.Lq

TOTAL AND DIRECT BILIRUBIN DSA METHOD with DMSO

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

Cod 3005B200 100+100 ml
 Cod 3005B1000 500+500 ml

PRINCIPLE

Direct bilirubin in the sample reacts with diazotized sulfanilic acid (DSA) forming a forming a red-colored azocomplex. Dimethylsulfoxide (DMSO) is used as a solvent for determination of total (direct + indirect) bilirubin in the sample. The intensity of coloration, measured at 540(±10) nm, is directly proportional to bilirubin^{1,2} concentration.

CONTENTS AND COMPOSITION

	Code	3005B200	3005B1000
Reagent AD		100 ml	2x250 ml
Sulfanilic acid	30 mmol/l		
Hydrochloric acid	0.2 mol/l		
Reagent AT		100 ml	2x250 ml
Sulfanilic acid	30 mmol/l		
Hydrochloric acid	50 mmol/l		
DMSO	7 mol/l		
Reagent B		8 ml	2x20 ml
Sodium nitrite	29 mmol/l		
Bilirubin standard		-	5 ml

Concentration of the standard is indicated on the vial's label

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label.
 Signs of reagent deterioration: presence of suspension, turbidity.

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: Total bilirubin: up to 1.1 mg/dl = 18.8 µmol/l.
 Direct bilirubin: 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.

ADDITIONAL EQUIPMENT AND REAGENTS

Analyzer, spectrophotometer or photometer with filter 540(±10) nm
 Cuvettes with 1 cm light path. Thermostat for 37°C. Timer. Dispensers 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. Safety precautions for usage of caustic and poisonous substances should be followed.

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.
 Bilirubin standard: open the vial, avoiding lyophilized material loss; dispense exactly 5 ml of distilled water into the vial. Cap the vial and incubate for 30 minutes at room temperature (15-30°C). Carefully swirl the vial till the complete dissolution on the contents, avoiding the foam forming. Shaking is not permissible!
 Bilirubin in the diluted Bilirubin Standard is stable 4 hours at +25°C; 6 hours at +4°C; 2 weeks at -20°C. Repeated freezing is not permissible!

PROCEDURE

Assay conditions

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

1. Pipette into labeled test tubes:

Direct bilirubin

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

Total bilirubin

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

NB: Volumes of reagent, standard and samples can be proportionally changed according to the working volumes of cuvettes in the applied analyzers.

2. Mix thoroughly and let the tubes stand for exactly 5 min at 37°C.
 3. Read the absorbance (A_s) of the Sample of the Standard (A_{st}) at 540(±10) nm against the Sample Blank or the Standard Blank.

CALCULATIONS

For the calculation of direct and total bilirubin concentration in sample use the following formula:

$$\frac{A_s}{A_{st}} \times C_{st} = C_s$$

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

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P 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.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

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

Linearity limit: up to 15 mg/dl = 257 µmol/l.

At higher concentration dilute sample with salina 1:3, repeat the measurement, multiply by 4 (dilution factor)

Reproducibility (within run):

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 (between run):

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

Interference:

Hemoglobin (10 g/l) do not interfere. Lipemia (triglycerides > 5 g/l) interfere. Other drugs and substances 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}. Conjugated hyperbilirubinemia is associated to a decreased excretion of bile due to liver diseases (hepatitis or cirrhosis) or to intrahepatic or extrahepatic cholestasis.

bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.

2. 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 Ci 1976; 1:343-359.

3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

--	--