

# BILIRUBIN TOTAL

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00010	BIL T 200	R1: 4 × 40 mL, R2: 1 × 40 mL instruction for use



## INTENDED USE

The kit is intended for *in vitro* photometric quantitative determination of bilirubin total in human serum and plasma on various automatic systems. In combination with other parameters it is intended for screening, monitoring and diagnosis of liver diseases. For professional use in clinical laboratory only.

## CLINICAL SIGNIFICANCE

Red blood cells at the end of their circulating lives are broken down in the reticuloendothelial system, mainly the spleen. The resulting heme is converted to bilirubin upon removal of iron. This process accounts for about 80% of the 500 μmol (292 mg) of bilirubin formed daily. Other sources of bilirubin include the breakdown of myoglobin and cytochromes and the catabolism of immature red blood cells in the bone marrow.

Once formed, bilirubin is transported to the liver bound to albumin. This fraction of bilirubin is referred to as indirect or unconjugated bilirubin. In the liver, bilirubin is conjugated to glucuronic acid (mono- and diglucuronides) by the enzyme uridy diphosphate glucuronyl transferase to form conjugated bilirubin. Conjugated bilirubin or direct bilirubin is excreted via the biliary system into the intestine, where it is metabolized by bacteria to a group of products known collectively as stercobilinogen. Elimination is almost complete and serum levels are normally negligible.

Total bilirubin is the sum of the unconjugated and conjugated fractions. Total bilirubin is elevated in hepatitis, cirrhosis, hemolytic disorders, several inherited enzyme deficiencies, and conditions causing hepatic obstruction. TOTAL BILIRUBIN = INDIRECT BILIRUBIN + DIRECT BILIRUBIN

## PRINCIPLE

Bilirubin and bilirubin glucuronate react with diazotized sulphanilic acid in a strongly acidic medium and form an intensely coloured diazo dye – azobilirubin. Bilirubin glucuronate is soluble in water and reacts directly, bilirubin associated with albumin must be previously hydrolyzed in presence of Cetrimide<sup>1,2,3,4,5</sup>.



Absorbance of the Azobilirubin measured at 546 nm is proportional to the concentration of the total bilirubin in the sample.

## REAGENT DESCRIPTION AND COMPOSITION

R1		R2	
Sulphanilic acid	28.9 mmol/L	Sodium nitrite	2.90 mmol/L
HCl	58.8 mmol/L		
Cetrimide	68.6 mmol/L		

## COMPOSITION OF REACTION MIXTURE

Sulphanilic acid	22.0 mmol/L
HCl	44.8 mmol/L
Cetrimide	52.2 mmol/L
Sodium nitrite	0.55 mmol/L

## REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid, ready to use. Prepare working reagent by mixing of 4 portion of reagent R1 with 1 portion of reagent R2.

## MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED WITH THE DEVICE

Any instrument with temperature control of 37 ±0.5 °C that is capable of reading absorbance at 546 nm may be used, general laboratory equipment.

## 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. 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.

## SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

It is recommended to follow ISO 15189 and laboratory instruction. For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers. Only the specimens listed below were tested and found acceptable. Serum.

Plasma: Li-heparin and K<sub>2</sub>-EDTA plasma.

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay. See the limitations and interferences section for details about possible sample interferences.

Stability in serum / plasma <sup>6,7</sup> :	1 days at	15–25 °C
	7 days at	4–8 °C
	6 months at	-20 °C

Protect sample from light. Discard contaminated specimens.

## CALIBRATION

Calibration with calibrator XL MULTICAL 4x3, Cat. No. XSYS0034 or XL MULTICAL 10x3, Cat. No. XSYS0122 is recommended.

2-point calibration (blank and calibrator); distilled water is recommended as blank

Calibration frequency: it is recommended to do a calibration

- after reagent lot change
- as required by internal quality control procedures

## QUALITY CONTROL

For quality control ERBA NORM 4x5, Cat. No. BLT00080 or ERBA NORM 10x5, Cat. No. XSYS0123 and ERBA PATH 4x5, Cat. No. BLT00081 or ERBA PATH 10x5, Cat. No. XSYS0124 are recommended. The control intervals and limits should be adapted according to each individual laboratory's requirements. Values obtained should fall within the defined intervals. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

## TRACEABILITY

This method, calibrator XL MULTICAL and controls ERBA NORM and ERBA PATH have been standardized against the reference material NIST SRM 916.

## ASSAY PROCEDURE

Wavelength: 546 / 670 nm

Cuvette: 1 cm

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Working reagent	1.00 mL	1.00 mL	1.00 mL
Sample	–	–	0.05 mL
Calibrator	–	0.05 mL	–
Distilled water	0.05 mL	–	–

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

## CALCULATION

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

$$2. \text{ Using factor (f):} \quad \text{Total Bilirubin (mg/dL)} = A_{sam} \times f \quad f = 24$$

## ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

Mode	End point	Normal Low (mg/dL)	0
Wavelength 1 (nm)	546	Normal High (mg/dL)	2
Wavelength 2 (nm)	670	Linearity Low (mg/dL)	0.02
Sample Volume (μL)	25/50	Linearity High (mg/dL)	30
Working Reagent Volume (μL)	500/1000	Factor	24
Incubation time (min.)	5	Blank with	Reagent
Reaction temperature (°C)	37	Absorbance limit (max.)	0.15
Reaction direction	Increasing	Units	mg/dL

## UNIT CONVERSION

mg/dL × 17.1 = μmol/L

## EXPECTED VALUES<sup>10</sup>

In serum:	Premature	Full term:
Cord	<2.0	<2.0 mg/dL
0–1 d	1.0–8.0	2.0–6.0 mg/dL
1–2 d	6.0–12.0	6.0–10.0 mg/dL
3–5 d	10.0–14.0	4.0–8.0 mg/dL
Adult		0–2.0 mg/dL

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

## ANALYTICAL PERFORMANCE

Data contained within this section is representative for performance on ERBA XL-640 automatic system. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

**Limit of quantification:** 0.02 mg/dL

Limit of quantification represents the lowest measurable analyte level. It is calculated as the determined activity of diluted sample to have CV <20% (n = 30).

**Linearity:** 30 mg/dL

Linearity is the highest measured activity with recovery within ±10 % from theoretical value.

## Precision:

Precision was determined by using controls in an internal protocol with repeatability (n = 20) and intermediate precision (2 aliquots per run, 2 run per day, 20 days). The following results were obtained:

Repeatability	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Sample 1	1.56	0.007	0.44
Sample 2	5.25	0.028	0.53

Intermediate precision	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Sample 1	1.37	0.027	1.96
Sample 2	4.76	0.094	1.98

## Accuracy

Two different validated control materials were used. Determined bias is and -0.8 % at the target value 1.68 mg/dL and 6.7 % at the target value 4.55 mg/dL.

## Comparison

A comparison between XL-640 automatic system BILIRUBIN TOTAL (y) and a commercially available test (x) using 150 samples gave following results:

Linear regression:

$$y = 1.014x - 0.056 \text{ mg/dL} \quad r = 0.998$$

$$y = 0.920x + 0.046 \text{ mg/dL} \quad r = 0.916$$

$$y = 0.920x + 0.046 \text{ mg/dL} \quad r = 0.916$$

## Interferences

Criterion: Recovery within ±10 % of initial value of total bilirubin concentration in the sample without interfering substance.

Following substances do not interfere: haemoglobin up to 12.5 g/L, triglycerides up to 850 mg/dL.

## Limitations:

- Deteriorated reagents (e.g. exceeding the storage temperature) may give incorrect results. Maximum allowable absorbance of the reagent blank measured at 546 nm against the distilled water is 0.15.
- High concentration of haemoglobin and triglycerides in sample can interfere with determination of direct bilirubin. See paragraph Interferences.

## WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person. Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

## Hazards identification in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008

### R1

UFI: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Danger

## Hazard statements:

H314 Causes severe skin burns and eye damage.

## Precautionary statements:

- P260 Do not breathe vapours.
- P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
- P301 + P330 + P331 IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water or shower.
- P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

## Supplemental information

EUH 208 Contains sulphanilic acid. May produce an allergic reaction.

## R2

Reagent is not classified as dangerous.

## WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.



ЭРБА Билирубин общий



Кат. №	Упаковка (содержимое)
BLT00010	R1: 4 × 40 мл (BT), R2: 1 × 40 мл инструкция по применению



ПРИМЕНЕНИЕ

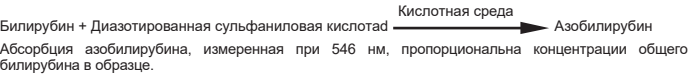
Диагностический набор для определения *in vitro* количества общего билирубина в сыворотке и плазме крови человека на различных автоматизированных системах. В сочетании с другими параметрами он предназначен для скрининга, мониторинга и диагностики заболеваний печени. Только для профессионального использования в клинических лабораториях.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

В конце своего жизненного цикла в кровотоке в ретикулоэндотелиальной системе, в частности селезенке, эритроциты расщепляются до гема. После удаления железа образовавшийся гем превращается в билирубин. На этот процесс приходится около 80 % от 500 мкмоль (292 мг) билирубина, образующегося ежедневно. Другие источники билирубина включают распад миоглобина и цитохромов, а также катаболизм незрелых эритроцитов в костном мозге. Образовавшийся билирубин связывается с альбумином и транспортируется в печень. Эта фракция билирубина называется прямым или также конъюгированным билирубином. В печени билирубин конъюгируется с глюкуроновой кислотой (моно- и диглюкурониды) под действием фермента уридилдифосфат-глюкуронилтрансферазы с образованием конъюгированного билирубина. Конъюгированный или прямой билирубин выделяется билиарной системой в кишечник, где он метаболизируется бактериями до группы продуктов, известных под общим названием стеркобилиноген. Элиминация почти полная, и уровень билирубина в сыворотке крови обычно незначителен. Общий билирубин – это сумма конъюгированной и конъюгированной фракций. Общий билирубин повышается при гепатите, циррозе, гемолитических нарушениях, некоторых наследственных дефицитах ферментов и состояниях, вызывающих обструкцию печени. ОБЩИЙ БИЛИРУБИН = НЕПРЯМОЙ БИЛИРУБИН + ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН

ПРИНЦИП

Билирубин реагирует в сильно кислой среде с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием интенсивно азокрасителя – азобилирубина. Глюкуронат билирубина растворим в воде и вступает в прямую реакцию. Билирубин, связанный с альбумином, должен быть предварительно гидролизован в присутствии цетримид<sup>1,2,3,4,5</sup>.



ОПИСАНИЕ И СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Реагент 1		Реагент 2	
Сульфаниловая кислота	28,9 ммоль/л	Нитрит натрия	2,90 ммоль/л
HCl	58,8 ммоль/л		
Цетримид	68,6 ммоль/л		

СОСТАВ РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ

Сульфаниловая кислота	22,0 ммоль/л
HCl	44,8 ммоль/л
Цетримид	52,2 ммоль/л
Нитрит натрия	0,55 ммоль/л

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты находятся в жидком состоянии и готовы к использованию. Рабочий раствор готовится путем смешивания 4 частей реагента R1 с одной частью реагента R2.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ В КОМПЛЕКТЕ

Анализатор с контролем температуры 37 ±0,5 °C, способный считывать абсорбцию при 546 нм, базовое лабораторное оборудование.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Неоткрытые реагенты, хранящиеся при температуре 2–8 °C, стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке. Рабочий раствор стабилен в течение 7 дней при температуре 2–8 °C, если он защищен от загрязнения и света. Рекомендуется приготовить свежий рабочий раствор до начала измерений.

СБОР ОБРАЗЦОВ И ОБРАБОТКА

Рекомендуется следовать ISO 15189 и инструкциям лаборатории. Для отбора и подготовки образцов используйте только подходящие пробирки или емкости для проб. Только перечисленные ниже образцы прошли испытания и являются приемлемыми: Сыворотка. Плазма: Ли-гепаринизированная и K<sub>2</sub>-ЭДТА плазма. Эти типы образцов были протестированы с использованием отдельных типов пробирок, которые были коммерчески доступны в то время, т.е. не все типы пробирок от всех производителей были включены в тест. Системы отбора образцов разных производителей могут содержать различные материалы, что в некоторых случаях может существенно повлиять на результаты. При обработке образцов в первичных пробирках (системах отбора образцов) следуйте инструкциям производителя. Перед проведением теста отделите осадок в образцах центрифугированием. Подробную информацию о возможных ограничениях см. в разделах «Влияющие вещества» и «Ограничения».

Стабильность в сыворотке/плазме <sup>6,7</sup>	1 дней при температуре 15–25 °C
	7 дней при температуре 4–8 °C
	6 месяцев при -20 °C

Защищайте образцы от света. Не используйте загрязненные образцы.

КАЛИБРОВКА

Для калибровки рекомендуется использовать XL MULTICAL 4x3, кат. номер XSYS0034 или XL MULTICAL 10x3, кат. номер XSYS0122. Калибровка по двум точкам (холостой образец и калibrator); в качестве холостого образца рекомендуется использовать дистиллированную воду. Частота калибровки: рекомендуется проводить калибровку.

- при смене партии реагентов
- в соответствии с требованиями внутренних процедур контроля качества

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля качества рекомендуется использовать ERBA NORM 4x5, кат. номер BLT00080 или ERBA NORM 10x5, кат. номер XSYS0123 и ERBA PATH 4x5, кат. номер BLT00081 или ERBA PATH 10x5, кат. номер XSYS0124. Интервалы и пределы проверок должны быть установлены в соответствии с требованиями каждой отдельной лаборатории. Полученные значения должны попадать в определенные интервалы. Каждая лаборатория должна установить корректирующие меры на случай, если значения выйдут за пределы установленного диапазона.

ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ

Метод, калибратор XL MULTICAL и контроли ERBA NORM и ERBA PATH были стандартизированы относительно эталонного материала NIST SRM 916.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 546 / 670 нм  
Кювета: 1 см

	Холостая проба	Калибратор	Образец
Рабочий раствор	1,00 мл	1,00 мл	1,00 мл
Образец	–	–	0,05 мл
Калибратор	–	0,05 мл	–
Дистиллированная вода	0,05 мл	–	–

Перемешайте и инкубируйте в течение 5 мин при 37 °C. Измерьте абсорбцию образца Avz и калибратора A<sub>кал</sub> по сравнению с холостым реагентом.

РАСЧЕТ

- Общий билирубин (мг/дл) =  $\frac{A_{vz}}{A_{кал}}$  × C<sub>кал</sub> C<sub>кал</sub> = концентрация в калибраторе
- Использование коэффициента (f):  
Общий билирубин (мг/дл) = A<sub>vz</sub> × f f = 24

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ РАБОТЫ НА АНАЛИЗАТОРЕ

Режим	Кон. точка	Нормальное нижнее значение (мг/дл)	0
Длина волны 1 (нм)	546	Нормальное верхнее значение (мг/дл)	2
Длина волны 2 (нм)	670	Нижнее значение линейности (мг/дл)	0,02
Объем образца (мкл)	25/50	Верхнее значение линейности (мг/дл)	30
Объем рабочего раствора (мкл)	500/1000	Фактор	24
Время инкубации (мин.)	5	Холостой образец	Реагент
Температура реакции (°C)	37	Предел поглощения (макс.)	0,15
Направление реакции	Увеличение	Единицы	мг/дл

КОЭФФИЦИЕНТ ПЕРЕСЧЕТА

мг/дл × 17,1 = мкмоль/л

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ<sup>10</sup>

Сыворотка:	Недоношенность	В срок:
Пуповинная кровь:	<2,0	<2,0 мг/дл
0–1 d	1,0–8,0	2,0–6,0 мг/дл
1–2 d	6,0–12,0	6,0–10,0 мг/дл
3–5 d	10,0–14,0	4,0–8,0 мг/дл
Взрослые		0–2,0 мг/дл

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория проверила диапазон эталонного интервала для населения, для которого она проводит лабораторные исследования.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Критерии эффективности были получены на автоматизированной системе ERBA XL-640. Данные, полученные в вашей лаборатории, могут отличаться от этих значений.

Предел количественного определения:

0,02 мг/дл  
Предел количественного определения соответствует самому низкому измеряемому значению. Рассчитывается как определенная активность разбавленного образца с CV <20 % (n = 30).

Линейность:

30 мг/дл  
Линейность – это наибольшая измеренная активность с восстановлением ±10% от теоретического значения.

Точность:

Точность определялась с использованием контрольных материалов согласно внутреннему протоколу с воспроизводимостью (n = 20) и промежуточной точностью (2 аликвоты на одно измерение, 2 измерения в день, 20 дней). Были получены следующие результаты:

Воспроизводимость	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Образец 1	1,56	0,007	0,44
Образец 2	5,25	0,028	0,53

Промежуточная точность	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Образец 1	1,37	0,027	1,96
Образец 2	4,76	0,094	1,98

Достоверность

Использовались два различных валидированных контрольных материала. Установленная погрешность составляет -0,8% для значения 28,8 мкмоль/л и 6,7 % для значения 77,8 мкмоль/л.

Сравнение

Значения ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА, определенные на автоматизированной системе XL-640 (y), сравнивались с коммерчески доступным анализом (x) на 150 образцах.

Линейная регрессия:  
y = 1,014x - 0,056 мг/дл r = 0,998  
Passing-Bablok<sup>11</sup>:  
y = 0,920x + 0,046 мг/дл r = 0,916

Влияющие вещества

Критерий: восстановление в пределах ±10 % от исходного значения концентрации общего билирубина в образце без влияющих веществ. Следующие вещества не оказывают влияния: гемоглобин до 12,5 г/л, триглицериды до 850 мг/дл.

Ограничения:

- Ухудшение состояния реагентов (например, из-за превышения температуры хранения) может привести к получению неправильных результатов. Максимально допустимое поглощение холостого образца при 546 нм относительно дистиллированной воды составляет 0,15.
- Высокая концентрация гемоглобина и триглицеридов в образце может помешать определению прямого билирубина. См. абзац «Влияющие вещества».

Предупреждение и меры предосторожности

Предназначен для использования в диагностике *in vitro* уполномоченным и квалифицированным специалистом. О каждом серьезном неблагоприятном событии, произошедшем в связи с этим устройством, необходимо сообщить производителю и в компетентный орган страны-члена пребывания пользователя и/или пациента.

Идентификация опасностей в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1272/2008

R1  
UF1: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Опасность

Обозначение опасности:  
H314 Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз.

Меры предосторожности:

- P260 Избегать вдыхания паров.
- P280 Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/ средствами защиты глаз.
- P301 + P330 + P331 ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту.
- P303 + P361 + P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду, промыть кожу водой или под душем.
- 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.

Дополнительная информация:

EUN208 Содержит сульфаниловую кислоту. Может вызвать аллергическую реакцию.

R2

Реагент не классифицируется как опасный.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с требованиями местного законодательства.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
BLT00010	ЭРБА Билирубин общий	ФСЗ 2011/09958	от 14.05.2019



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ  
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com  
N/57/24/K/INT Дата проведения контроля: 6. 6. 2024

# BILIRUBIN TOTAL

Kat. č.	Název	Balení
BLT00010	BIL T 200	R1: 4 × 40 ml, R2: 1 × 40 ml návod k použití



## ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro *in vitro* stanovení celkového bilirubinu v lidském séru a plazmě na různých automatických systémech. V kombinaci s dalšími parametry je určen pro screening, monitorování a diagnostiku onemocnění jater. Pouze pro odborné použití v klinických laboratořích.

## KLINICKÝ VÝZNAM

Na konci svého životního cyklu v krevním oběhu dochází v retikuloendoteliálním systému, zejména ve slezině, k rozkladu červených krvinek na hem. Výsledný hem se po odstranění železa přemění na bilirubin. Tento proces představuje asi 80 % z 500 μmol (292 mg) denně vytvořeného bilirubinu. Mezi další zdroje bilirubinu patří rozklad myoglobinu a cytochromů a katabolismus nezralých červených krvinek v kostní dřeni. Vzniklý bilirubin je transportován do jater navázaný na albumin. Tato frakce bilirubinu se označuje jako nepřímý nebo také nekonjugovaný bilirubin. V játrech je bilirubin konjugován s kyselinou glukuronovou (mono- a diglukuronidy) enzymem uridyldifosfátglukuryltransferázou za vzniku konjugovaného bilirubinu. Konjugovaný nebo také přímý bilirubin je vylučován žlučovým systémem do střeva, kde je metabolizován bakteriemi na skupinu produktů známých souhrnně jako sterokobilinogen. Eliminace je téměř úplná a sérové hladiny bilirubinu jsou normálně zanedbatelné. Celkový bilirubin je součet nekonjugovaných a konjugovaných frakcí. Celkový bilirubin je zvýšený při hepatitidě, cirhóze, hemolytických poruchách, několika dědičných enzymových deficitech a stavech způsobujících obstrukci jater. CELKOVÝ BILIRUBIN = NEPŘÍMÝ BILIRUBIN + PŘÍMÝ BILIRUBIN

## PRINCIP METODY

Bilirubin reaguje v silné kyselém prostředí s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku intenzivně zbarveného azobilirubinu. Bilirubin glukuronát je rozpustný ve vodě a reaguje přímo. Bilirubin navázaný na albumin musí být předem hydrolyzován v přítomnosti Četrimidu<sup>1,2,3,4,5</sup>.

Bilirubin + Diazotovaná kyselina sulfanilová  $\xrightarrow{\text{Kyselé prostředí}}$  Azobilirubin  
Absorbance azobilirubinu měřená při 546 nm je úměrná koncentraci celkového bilirubinu ve vzorku.

## SLOŽENÍ ČINIDEL

R1		R2	
Kyselina sulfanilová	28,9 mmol/l	Dusitan sodný	2,90 mmol/l
HCl	58,8 mmol/l		
Cetrimid	68,6 mmol/l		

## SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

Kyselina sulfanilová	22,0 mmol/l
HCl	44,8 mmol/l
Cetrimid	52,2 mmol/l
Dusitan sodný	0,55 mmol/l

## PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití. Pracovní roztok se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 s jedním dílem činidla R2.

## POTŘEBNÝ MATERIÁL, ALE NEDODÁVANÝ SE SOUPRAVOU

Analýzátor s regulací teploty 37 ±0,5 °C, který je schopen odečítat absorbanci při 546 nm, základní laboratorní vybavení.

## STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Neotevřená činidla, skladovaná při 2–8 °C, jsou stabilní do doby expirace vyznačené na obale. Pracovní roztok je stabilní po dobu 7 dní při 2–8 °C, pokud je chráněn před kontaminací a světlem. Doporučuje se připravovat čerstvý pracovní roztok před vlastním měřením.

## ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA

Je doporučeno dodržovat ISO 15189 a laboratorní pokyny. Pro odběr a přípravu vzorků používejte pouze vhodné zkuševky nebo odběrové nádobky. Pouze níže uvedené vzorky byly testovány a jsou přijatelné: Sérum. Plazma: Li-heparinizovaná a K<sub>2</sub>-EDTA plazma. Uvedené druhy vzorků byly testovány s vybranými typy odběrových zkušev, které byly komerčně dostupné v dané době, tzn. že do testu nebyly zařazeny všechny typy zkušev všech výrobců. Systémy odběru vzorků různých výrobců mohou obsahovat různé materiály, které mohou mít v některých případech zásadní vliv na výsledky. Při zpracování vzorků v primárních zkuševkách (systémy odběru vzorků) dodržujte pokyny jejich výrobce. Před provedením testu oddělte sraženiny ve vzorcích centrifugací. Podrobnosti o možných omezeních naleznete v sekci Interference.

<b>Stabilita v séru / plazmě<sup>6</sup>:</b>	1 den při 15–25 °C
	7 dní při 4–8 °C
	6 měsíců při -20 °C

Chraňte vzorky před světlem.  
Nepoužívejte kontaminované vzorky.

## KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje XL MULTICAL 4x3, kat. č. XSYS0034 nebo XL MULTICAL 10x3, kat. č. XSYS0122. Dvoubodová kalibrace (blank a kalibrátor); jako blank je doporučována destilovaná voda. Frekvence kalibrace: je doporučeno provádět kalibraci:  
• při změně šarže reagentů  
• dle požadavků interních postupů kontroly kvality

## KONTROLA KVALITY

Ke kontrole kvality se doporučuje ERBA NORM 4x5, Kat. č. BLT00080 nebo ERBA NORM 10x5, Kat. č. XSYS0123 a ERBA PATH 4x5, Kat. č. BLT00081 nebo ERBA PATH 10x5, Kat. č. XSYS0124. Intervaly a limity kontrol by měly být nastaveny podle požadavků každé jednotlivé laboratoře. Získané hodnoty by měly spadat do definovaných intervalů. Každá laboratoř by měla stanovit nápravná opatření, pokud hodnoty překročí definované rozmezí.

## NÁVAZNOST

Metoda, kalibrátor XL MULTICAL a kontroly ERBA NORM a PATH byly standardizovány vůči referenčnímu materiálu NIST SRM 916.

## POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka: 546 / 670 nm  
Kyveta: 1 cm

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Pracovní roztok	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Vzorek	–	–	0,05 ml
Kalibrátor	–	0,05 ml	–
Destilovaná voda	0,05 ml	–	–

Promíchá se a inkubuje 5 min. při 37 °C. Měří se absorbance vzorku A<sub>vz</sub> a kalibrátoru A<sub>kal</sub> vůči reagenčnímu blanku.

## VÝPOČET

- Celkový Bilirubin (μmol/l) =  $\frac{A_{vz}}{A_{kal}} \times C_{kal}$  C<sub>kal</sub> = hodnota v kalibrátoru
- Použití faktoru (f):  
Celkový Bilirubin (μmol/l) = A<sub>vz</sub> × f f = 410

## PARAMETRY MĚŘENÍ PRO FOTOMETRY

Režim	End point	Normální dolní hodnota (μmol/l)	0
Vlnová délka 1 (nm)	546	Normální horní hodnota (μmol/l)	34
Vlnová délka 2 (nm)	670	Dolní mez stanovitelnosti (μmol/l)	0,36
Objem vzorku (μL)	25/50	Linearita (μmol/l)	513
Objem pracovního roztoku (μL)	500/1000	Faktor	410
Doba inkubace (min.)	5	Blank	Činidlo
Reakční teplota (°C)	37	Limit absorbance (max.)	0,15
Reakční směr	Vzrůstající	Jednotky	μmol/l

## PŘEPOČET JEDNOTEK

mg/dL × 17,1 = μmol/l

## REFERENČNÍ HODNOTY<sup>10</sup>

Sérum:	Nedonošení	V terminu
Pupečníková krev:	<34,2	<34,2 μmol/l
0–1 d	17–187	34–103 μmol/l
1–2 d	103–205	103–171 μmol/l
3–5 d	171–240	68–137 μmol/l
Dospělí		0–34 μmol/l

Doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

## VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatickém systému ERBA XL-640. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

**Dolní mez stanovitelnosti:** 0,36 μmol/l

Dolní mez stanovitelnosti označuje nejnížší měřitelnou hodnotu analytu. Je vypočítána jako stanovená aktivita zředěného vzorku s CV <20 % (n = 30)

**Linearita:** 513 μmol/l

Linearita je nejvyšší naměřená aktivita s výtěžností ±10 % od teoretické hodnoty.

## Přesnost:

Přesnost byla stanovena použitím kontrolních materiálů dle interního protokolu s opakovatelností (n = 20) a mezilehlou přesností (2 alikvoty v jednom měření, 2 měření denně, 20 dní). Byly získány následující výsledky:

Opakovatelnost	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	26,6	0,12	0,44
Vzorek 2	89,8	0,47	0,53

Mezilehlá přesnost	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	23,4	0,46	1,96
Vzorek 2	81,4	1,61	1,98

## Správnost

Byly použity dva různé validované kontrolní materiály. Stanovený bias je -0,8 % pro hodnotu 28,8 μmol/l a 6,7 % pro hodnotu 77,8 μmol/l.

## Srovnání

Hodnoty celkového bilirubinu, stanovené na automatickém systému XL-640 (y) byly porovnány s komerčně dostupným testem (x) na 150 vzorcích.

Lineární regrese:

y = 1,014x - 0,95 μmol/l r = 0,998

Passing-Bablok<sup>11</sup>: y = 0,920x + 0,78 μmol/l r = 0,916

## INTERFERENCE

Kritérium: výtěžnost v rámci ±10 % počáteční hodnoty koncentrace přímého bilirubinu ve vzorku bez interferujících látek. Následující analyty neinterferují: hemoglobin do 12,5 g/l, triglyceridy do 850 mg/dl.

## Omezení

- Zhoršená kvalita činidel (například překročením skladovací teploty) může způsobit nesprávné výsledky.
- Minimální povolená absorbance blanku při 546 nm proti destilované vodě je 0,15.
- Vysoké koncentrace hemoglobinu a triglyceridů ve vzorku mohou interferovat se stanovením přímého bilirubinu. Viz odstavec interference.

## VAROVÁNÍ A POKYNY PRO BEZPEČNÉ ZACHÁZENÍ

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odbornou způsobou osobou. Jakákoliv závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s tímto prostředkem, musí být nahlášena výrobcí a státní autoritě.

## Identifikace nebezpečnosti v souladu s Nařízením (EC) č. 1272/2008

### R1

UFI: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Nebezpečí

## Standardní věty o nebezpečnosti:

H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

## Pokyny pro bezpečné zacházení:

P260 Nevdechujte páry.

P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P301 + P330 + P331 PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.

P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou nebo osprchujte.

P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Doplňující informace EUH 208 Obsahuje sulfanilovou kyselinu. Může vyvolat alergickou reakci.

### R2

Činidlo není klasifikováno jako nebezpečné.

## NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Likvidace odpadních materiálů musí probíhat v souladu s místními předpisy.



# БІЛІРУБІН ЗАГАЛЬНИЙ

Кат. №	Назва	Пакування
BLT00010	BIL T 200	R1: 4 × 40 mL, R2: 1 × 40 mL інструкція з використання



## МЕТА ВИКОРИСТАННЯ

Діагностичний набір для *in vitro* визначення загального білірубіну в сироватці та плазмі людини на різних автоматизованих системах. У поєднанні з іншими параметрами він призначений для скринінгу, моніторингу та діагностики захворювань печінки. Тільки для професійного використання в клінічних лабораторіях.

## КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Наприкінці свого життєвого циклу в крові еритроцити розщеплюються на гем у ретикулоендотеліальній системі, особливо в селезінці. Отриманий гем після видалення заліза перетворюється на білірубін. На цей процес припадає близько 80% 500 мкмоль (292 мг) білірубіну, що виробляється щодня. Інші джерела білірубіну включають розпад міоглобіну та цитохромів, а також катаболізм незрілих еритроцитів у кістковому мозку. Утворений білірубін транспортується до печінки у зв'язаному вигляді з альбуміном. Ця фракція білірубіну називається непрямым або незв'язаним білірубіном. У печінці білірубін зв'язується з глюкуроновою кислотою (моно- і диглюкуронідами) за допомогою ферменту уридиндифосфатглюкуронілтрансферази з утворенням зв'язаного білірубіну. Зв'язаний або прямий білірубін виділяється жовчовивідною системою в кишечник, де він метаболізується бактеріями в групу продуктів, відомих під загальною назвою стеркобіліноген. Елімінація майже повна, а рівень білірубіну в сироватці зазвичай незначний. Загальний білірубін - це сума некон'югованої та кон'югованої фракцій. Загальний білірубін підвищується при гепатиті, цирозі печінки, гемолітичних захворюваннях, ряді спадкових ферментних недостатностей і станах, що викликають обструкцію печінки. ЗАГАЛЬНИЙ БІЛІРУБІН = НЕПРЯМИЙ БІЛІРУБІН + ПРЯМИЙ БІЛІРУБІН

## ПРИНЦИП МЕТОДУ

Білірубін реагує в сильно кислому середовищі з діазотованою сульфаніловою кислотою з утворенням інтенсивно відщепленого азоксарианіа азокбілірубіну. Білірубін глюконат розчиняється у воді та вступає в безпосередню реакцію. Білірубін, зв'язаний з альбуміном, спочатку повинен бути гідролізований у присутності цетриміду<sup>1,2,3,4,5</sup>.

Білірубін + Діазотована сульфанілова кислота  $\xrightarrow{\text{Кисле середовище}}$  Азокбілірубін

Поглиблення азокбілірубіну, вимірює при 546 нм, пропорційне концентрації прямого білірубіну в зразку.

## СКЛАД РЕАГЕНТІВ

R1	R2
Сульфанілова кислота	Нітрит натрію
HCl	2,90 ммоль/л
Цетримід	68,6 ммоль/л

## СКЛАД РЕАКЦІЙНОЇ СУМІШІ

Сульфанілова кислот	22,0 ммоль/л
HCl	44,8 ммоль/л
Цетримід	52,2 ммоль/л
Нітрит натрію	0,55 ммоль/л

## ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Реактиви рідкі, готові до використання. Робочий розчин готують змішуванням 4 частин реактиву R1 з однією частиною реагенту R2.

## НЕОБХІДНИЙ МАТЕРІАЛ, ЩО НЕ ПОСТАВЛЯЄТЬСЯ РАЗОМ З ПРИСТРОЄМ

Аналізатор з контролем температури 37 ±0,5° C, який може зчитувати абсорбцію при 546 нм, базове лабораторне обладнання.

## СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Невідриті реагенти, які зберігаються при 2–8 °C, стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на пакуванні. Робочий розчин стабільний протягом 7 діб при температурі 2–8 °C у захищеному від забруднення та світла місці. Безпосередньо перед вимірюванням рекомендується приготувати свіжий робочий розчин.

## ВІДБІР ПРОБ ТА ПІДГОТОВКА

Рекомендується дотримуватися ISO 15189 і лабораторних інструкцій. З метою збору та підготовки зразків використовуйте лише відповідні пробірки або контейнери для збору зразків. Лише наведені нижче зразки були протестовані та прийнятні: Сироватка. Плазма: Li-гепаринізована та K<sub>2</sub>-EDTA плазма. Рекомендується дотримуватися ISO 15189 і лабораторних інструкцій. З метою збору та підготовки зразків використовуйте лише відповідні пробірки або контейнери для збору зразків. Лише наведені нижче зразки були протестовані та прийнятні:

<b>Стабільність у сироватці/плазмі<sup>6,7</sup>:</b>	1 день при	15–25 °C
	7 днів при	4–8 °C
	6 місяців при	-20 °C

Захищайте зразки від світла. Не використовуйте забруднені зразки.

## КАЛІБРУВАННЯ

Для калібрування рекомендовано XL MULTICAL 4x3, кат. № XSYS0034 або XL MULTICAL 10x3, кат. № XSYS0122. Двоточкове калібрування (бланк і калібратор); дистильована вода рекомендується як бланк. Періодичність калібрування: рекомендується калібрувати: • при зміні партії реактивів • відповідно до вимог внутрішніх процедур контролю якості

## КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю якості рекомендується ERBA NORM 4x5, кат. № BLT00080 або ERBA NORM 10x5, кат. № XSYS0123 і ERBA PATH 4x5, кат. № BLT00081 або ERBA PATH 10x5, кат. № XSYS0124. Контрольні інтервали та межі повинні бути встановлені відповідно до вимог кожної окремої лабораторії. Отримані значення повинні виходити в задані інтервали. Кожна лабораторія повинна встановити коригувальні заходи, якщо значення перевищують визначений діапазон.

## ПРОСТЕЖУВАНІСТЬ

Метод, калібратор XL MULTICAL та перевірки ERBA NORM і PATH були стандартизовані за еталонним матеріалом NIST SRM 916.

## ПРОЦЕДУРА ВИМІРЮВАННЯ

Довжина хвилі: 546 / 670 нм  
Кювета: 1 см

	Бланк реагенту	Калібратор	Зразок
Робочий розчин	1,00 мл	1,00 мл	1,00 мл
Зразок	—	—	0,05 мл
Калібратор	—	0,05 мл	—
Дистильована вода	0,05 мл	—	—

Перемішати та інкубувати 5 хв. при 37 °C. Вимірюють абсорбцію зразка A<sub>зр</sub> і калібратора A<sub>кал</sub> проти бланка реагенту.

## РОЗРАХУНОК:

1. Загальний або прямий білірубін (мг/дл) =  $\frac{A_{зр}}{A_{кал}} \times C_{кал}$  C<sub>кал</sub> = значення в калібраторі
2. Використання коефіцієнта (f):  
Прямий білірубін (мг/дл) = A<sub>зр</sub> × f f = 24

## ПАРАМЕТРИ ВИМІРЮВАННЯ ФОТОМЕТРАМИ

Режим	Кінцева точка	Нижня норма (мг/дл)	0
Довжина хвилі 1 (нм)	546	Верхня норма (мг/дл)	2
Довжина хвилі 2 (нм)	670	Нижнє значення лінійності (мг/дл)	0,02
Об'єм зразка (мкл)	25/50	Верхнє значення лінійності (мг/дл)	30
Об'єм робочого розчину (мкл)	500/1000	Фактор	24
Час інкубації (хв.)	5	Бланк	Реагент
Температура реакції (°C)	37	Межа поглинання (макс.)	0,15
Напрямок реакції	Висхідний	Одиниці	(мг/дл)

## ПЕРЕВЕДЕННЯ ОДИНИЦЬ

мг/дл × 17,1 = мкмоль/л

## РЕФЕРЕНТНІ ЗНАЧЕННЯ<sup>10</sup>

Сироватка:	Передчасно	Вчасно:
Пуповинна кров:	<2,0	<2,0 мг/дл
0–1 д	1,0–8,0	2,0–6,0 мг/дл
1–2 д	6,0–12,0	6,0–10,0 мг/дл
3–5 д	10,0–14,0	4,0–8,0 мг/дл
Дорослі:	0–2,0	0–2,0 мг/дл

Рекомендується, щоб кожна лабораторія перевіряла діапазон референтного інтервалу для популяції, для якої вона проводить лабораторне дослідження.

## ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Експлуатаційні характеристики отримані на автоматичній системі ERBA XL-640. Дані, отримані у вашій лабораторії, можуть відрізнятися від цих значень.

**Межа кількісного визначення:** 0,02 мг/дл

Нижня межа кількісного визначення вказує на найнижчу вимірювану величину аналіту. Розраховується як визначена активність розведеного зразка з CV <20 % (n = 30).

## Лінійність:

Лінійність – це найвища виміряна активність із виходом ±10% від теоретичного значення.

## Точність

Точність визначали за допомогою контрольних матеріалів згідно з внутрішнім протоколом з повторюваністю (n = 20) та проміжною точністю (2 алікоти в одному вимірюванні, 2 вимірювання на добу, 20 днів). Були отримані такі результати:

Повторюваність	Діаметр (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Зразок 1	1,56	0,007	0,44
Зразок 2	5,25	0,028	0,53

Проміжна точність	Діаметр (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Зразок 1	1,37	0,027	1,96
Зразок 2	4,76	0,094	1,98

## Правильність

Використовувалися два різні перевірені контрольні матеріали. Визначене відхилення становить -0,8 % для значення 1,68 мг/дл і 6,7 % для значення 4,55 мг/дл.

## Порівняння

Значення загального білірубіну, визначені на автоматизованій системі XL-640 (y), порівнювали з комерційно доступним аналізом (x) на 150 зразках.

Лінійна регресія:

y = 1,014x - 0,056 мг/дл r = 0,998

Passing-Bablok<sup>11</sup>:

y = 0,920x + 0,046 мг/дл r = 0,916

## ПЕРЕШКОДИ

Критерій: відновлення в межах ±10% початкового значення концентрації прямого білірубіну в зразку без заважаючих речовин. Не заважають такі речовини: гемоглобін до 12,5 г/л, тригліцериди до 850 мг/дл.

## Обмеження

- Погіршення якості реагентів (наприклад, перевищення температури зберігання) може призвести до неправильних результатів. Мінімально допустиме поглинання бланка при 546 нм відносно дистильованої води становить 0,15.  
- Високої концентрації гемоглобіну та тригліцеридів у зразку можуть заважати визначенню прямого білірубіну. Дивіться розділ про перешкоди.

## ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ІНСТРУКЦІЇ ЩОДО БЕЗПЕЧНОГО ПОВЕДІННЯ

Пристрій для діагностики *in vitro*, призначений для використання уповноваженою та професійно кваліфікованою особою. Про будь-який серйозний інцидент, який стався у зв'язку з пристроєм, слід повідомити виробника та компетентний орган держави-члена, в якій перебуває користувач та/або пацієнт.

## Ідентифікація небезпеки відповідно до Регламенту (ЄС) № 1272/2008

### R1

UF1: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Небезпека

## Позначки небезпеки:

H314 Викликає серйозні опіки шкіри та пошкодження очей.

## Заходи безпеки і перша допомога:

P260 Не вдихайте пари.

P280 Одягайте захисні рукавиці/захисний одяг/захисні окуляри/щиток для обличчя.

P301 + P330 + P331 У РАЗІ КОВТАННЯ: Прополоскати рот. НЕ ВИКЛИКАЙТЕ блювоту.

P303 + P361 + P353 У РАЗІ ПОТРАПЛЕННЯ НА ШКІРУ (або волосся): негайно зніміть весь забруднений одяг. Промийте шкіру водою або прийміть душ.

P305 + P351 + P338 ПРИ ПОТРАПЛЕННІ В ОЧІ: Ретельно промийте водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо ви їх носите та якщо їх легко зняти. Продовжуйте полоскання.

## Додаткова інформація

EUN208 Містить кислоту сульфанілову. Може викликати алергічну реакцію.

### R2

Засіб не класифікується як небезпечний.

## ПОВЕДІННЯ З ВІДХОДАМИ

Утилізація відходів повинна здійснюватися відповідно до місцевих юридичних вимог.

UA Уповноважений представник в Україні:  
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИКС УКРАЇНА“  
01042, Київ, вул. ІОННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401  
тел. +38-050-4483456  
ukraine@erba.com



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ  
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com

N/57/24/K/INT

Дата проведення контролю: 6. 6. 2024

## BILIRRUBINA TOTAL

No. de cat.	Nombre del paquete	Embalaje (contenido)
BLT00010	BIL T 200	R1: 4 × 40 mL, R2: 1 × 40 mL instrucciones de uso



## USO PREVISTO

El set está destinado a la determinación cuantitativa fotométrica *in vitro* de bilirrubina total en suero y plasma humanos en diversos sistemas automáticos. En combinación con otros parámetros, está destinado a la detección, monitoreo y diagnóstico de enfermedades hepáticas. Sólo para uso profesional en laboratorios clínicos.

## IMPORTANCIA CLÍNICA

Los glóbulos rojos al final de sus vidas circulatorias se descomponen en el sistema reticuloendotelial, principalmente en el bazo. El hemo resultante se convierte en bilirrubina tras la eliminación del hierro. Este proceso representa alrededor del 80% de los 500 µmol (292 mg) de bilirrubina que se forman diariamente. Otras fuentes de bilirrubina incluyen la descomposición de la mioglobina y los citocromos y el catabolismo de los glóbulos rojos inmaduros en la médula ósea.

Una vez formada, la bilirrubina se transporta al hígado unida a la albúmina. Esta fracción de bilirrubina se conoce como bilirrubina indirecta o no conjugada. En el hígado, la bilirrubina es conjugada con ácido glucurónico (mono- y diglucuronidos) por la enzima uridil difosfato glucuronil transferasa para formar bilirrubina conjugada. La bilirrubina conjugada o bilirrubina directa se excreta a través del sistema biliar al intestino, donde las bacterias la metabolizan en un grupo de productos conocidos colectivamente como estercobilinógeno. La eliminación es casi completa y los niveles séricos son normalmente insignificantes.

La bilirrubina total es la suma de las fracciones no conjugada y conjugada. La bilirrubina total se eleva en la hepatitis, la cirrosis, los trastornos hemolíticos, varias deficiencias enzimáticas hereditarias y las afecciones que causan obstrucción hepática. BILIRRUBINA TOTAL = BILIRRUBINA INDIRECTA + BILIRRUBINA DIRECTA

## PRINCIPIO

La bilirrubina y el glucuronato de bilirrubina reaccionan con el ácido sulfanílico diazotizado en un medio fuertemente ácido y forma un colorante diazo intensamente coloreado - azobilirrubina. El glucuronato de bilirrubina es soluble en agua y reacciona directamente, la bilirrubina asociada a la albúmina debe ser hidrolizada previamente en presencia de Cetrimida<sup>2,3,4,5</sup>.



La absorbancia de la azobilirrubina medida a 546 nm es proporcional a la concentración de la bilirrubina total en la muestra.

## DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

R1		R2	
Ácido sulfanílico	28.9 mmol/L	Nitrito sódico	2.90 mmol/L
HCl	58.8 mmol/L		
Cetrimida	68.6 mmol/L		

## COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE REACCIÓN

Ácido sulfanílico	22.0 mmol/L
HCl	44.8 mmol/L
Cetrimida	52.2 mmol/L
Nitrito sódico	0.55 mmol/L

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos líquidos, listos para usar. Prepare el reactivo de trabajo mezclando 4 partes del reactivo R1 con 1 parte del reactivo R2.

## MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL APARATO

Puede utilizarse cualquier instrumento con control de temperatura de 37 ± 0,5 °C que sea capaz de leer la absorbancia a 546 nm, equipo general de laboratorio.

## ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco y en la etiqueta del set cuando se almacenan a 2–8 °C. El reactivo de trabajo es estable durante 7 días a 2–8 °C, cuando está protegido de la contaminación y de la luz. Se recomienda preparar una solución de trabajo nueva antes de realizar el ensayo.

## RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda seguir la norma ISO 15189 y las instrucciones de laboratorio.

Para la recogida y preparación de muestras, utilice únicamente tubos o recipientes de recogida adecuados.

Solo las muestras enumeradas a continuación fueron probadas y consideradas aceptables.

Suero.

Plasma: Li-heparina y K<sub>2</sub>-EDTA plasma.

Los tipos de muestras enumerados se probaron con una selección de tubos de recogida de muestras que estaban disponibles comercialmente en el momento del análisis, es decir, no se probaron todos los tubos disponibles de todos los fabricantes.

Los sistemas de recogida de muestras de distintos fabricantes pueden contener materiales diferentes que podrían afectar a los resultados de las pruebas en algunos casos. Cuando procese muestras en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), siga las instrucciones del fabricante del tubo.

Centrifugue las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo.

Consulte la sección de limitantes e interferencias para obtener detalles sobre posibles interferencias de muestra.

Estabilidad en suero / plasma <sup>6,7</sup> :	1 día a	15–25 °C
	7 días a	4–8 °C
	6 meses a	-20 °C

Proteger la muestra de la luz.

Deseche las muestras contaminadas.

## CALIBRACIÓN

Se recomienda calibración con calibrador XL MULTICAL 4x3, No. de cat. XSYS0034 o XL MULTICAL 10x3, No. de cat. XSYS0122.

- Calibración de 2 puntos (blanco y calibrador); se recomienda agua destilada como blanco.
- Frecuencia de calibración: se recomienda realizar una calibración después de un cambio de lote de reactivo, tal como exigen los procedimientos internos de control de calidad.

## CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad se recomienda ERBA NORM 4x5, No. de cat. BLT00080 o ERBA NORM 10x5, No. de cat. XSYS0123 y ERBA PATH 4x5, No. de cat. BLT00081 o ERBA PATH 10x5, No. de cat. XSYS0124.

Los intervalos y límites de control deben adaptarse en función de las necesidades de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben estar dentro de los intervalos definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctoras que deben adoptarse si los valores se sitúan fuera de los límites definidos.

## TRAZABILIDAD

Este método, el calibrador XL MULTICAL y los controles ERBA NORM y ERBA PATH han sido estandarizados según el material de referencia NIST SRM 916.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Longitud de onda: 546 / 670 nm

Cubeta: 1 cm

	Blanco de Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo de trabajo	1.00 mL	1.00 mL	1.00 mL
Muestra	—	—	0.05 mL
Calibrador	—	0.05 mL	—
Agua destilada	0.05 mL	—	—

Mezcle e incube 5 min. a 37 °C. Mida la absorbancia de la muestra A<sub>sam</sub> y del calibrador A<sub>cal</sub> frente al blanco de reactivo.

## CÁLCULO

- Bilirrubina total (mg/dL) =  $\frac{A_{sam}}{A_{cal}} \times C_{cal}$  C<sub>cal</sub> = concentración del calibrador
- Usando el factor (f):  
Bilirrubina total (mg/dL) = A<sub>sam</sub> × f f = 24

## PARÁMETROS DE ENSAYO PARA FOTÓMETROS

Modo	Punto final	Normal Bajo (mg/dL)	0
Longitud de onda 1 (nm)	546	Normal Alto (mg/dL)	2
Longitud de onda 2 (nm)	670	Linealidad Baja (mg/dL)	0.02
Volumen de muestra (µL)	25/50	Linealidad Alta (mg/dL)	30
Reactivo de trabajo volumen (µL)	500/1000	Factor	24
Tiempo de incubación (min.)	5	Blanco con	Reactivo
Temperatura (°C) de la reacción	37	Límite de absorbancia (máximo)	0.15
Dirección de la reacción	Incrementando	Unidad	mg/dL

## CONVERSIÓN DE UNIDADES

mg/dL × 17.1 = µmol/L

VALORES ESPERADOS<sup>10</sup>

En suero:	Pematueros	A término:
Cuerda:	<2.0	<2.0 mg/dL
0–1 d	1.0–8.0	2.0–6.0 mg/dL
1–2 d	6.0–12.0	6.0–10.0 mg/dL
3–5 d	10.0–14.0	4.0–8.0 mg/dL
Adultos		0–2.0 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio verifique este rango o derive un intervalo de referencia para la población que evalúa.

## RENDIMIENTO ANALÍTICO

Los datos dentro de esta sección son representativos del rendimiento en el sistema automático ERBA XL-640. Los datos obtenidos en su laboratorio pueden diferir de estos valores.

Límite de cuantificación: 0.02 mg/dL

El límite de cuantificación representa el nivel de analito medible más bajo. Se calcula como la actividad determinada de la muestra diluida para tener un CV <20% (n = 30).

Linealidad: 30 mg/dL

La linealidad es la actividad medida más alta con una recuperación dentro del ±10% del valor teórico.

## Precisión:

La precisión se determinó mediante el uso de controles en un protocolo interno con repetibilidad (n = 20) y precisión intermedia (2 alícuotas por medida, 2 medidas por día, 20 días). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Repetibilidad	Promedio (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)	Precisión intermedia	Promedio (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Muestra 1	1.56	0.007	0.44	Muestra 1	1.37	0.027	1.96
Muestra 2	5.25	0.028	0.53	Muestra 2	4.76	0.094	1.98

## Precisión

Se utilizaron dos materiales de control validados diferentes. El sesgo determinado es del -0.8 % en el valor objetivo 1.68 mg/dL y del 6.7 % en el valor objetivo 4.55 mg/dL.

## Comparación

Una comparación entre la bilirrubina total determinada en el sistema automatizado XL-640 (y) y una prueba disponible comercialmente (x) usando 150 muestras dio los siguientes resultados:

Regresión lineal: y = 1.014x + 0.056 mg/dL r = 0.998

Pasando-Bablok<sup>11</sup>: y = 0.920x + 0.046 mg/dL r = 0.916

## Interferencias

Criterio: Recuperación dentro del ±10 % del valor inicial de la concentración total de bilirrubina en la muestra sin sustancia interferente.

Las siguientes sustancias no interfieren: Hemoglobina hasta 12.5 g/L, triglicéridos hasta 850 mg/dL.

## Limitaciones:

- Los reactivos deteriorados (por ejemplo, si se supera la temperatura de almacenamiento) pueden dar resultados incorrectos. La absorbancia máxima admisible del blanco de reactivo medida a 546 nm frente al agua destilada es de 0.15.

- Una concentración elevada de hemoglobina y triglicéridos en la muestra puede interferir en la determinación de la bilirrubina directa.

Véase el apartado Interferencias.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de diagnóstico *in vitro*. Debe ser manipulado por personas autorizadas y con la debida formación profesional. Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá comunicarse al fabricante y deberá notificarse a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

## Identificación de peligros de acuerdo con el Reglamento (CE) No 1272/2008

## R1

UF1: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Peligro

## Declaración de peligro:

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.

## Medidas de precaución:

P260 No respirar vapores.

P280 Usar guantes de protección/ropa de protección/protección para los ojos/protección facial.

P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuague la boca. NO induzca el vómito.

P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o pelo): Quítense inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuague la piel con agua o dúchese.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quítense las lentes de contacto si las usa y si es fácil hacerlo. Continúe enjuagando los ojos.

## Información complementaria

EUH 208 Contiene ácido sulfanílico. Puede producir una reacción alérgica.

## R2

El reactivo no está clasificado como peligroso.

## GESTIÓN DE RESIDUOS

Por favor consulte los requisitos legales locales.



## REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / LITERATURA / ЛІТЕРАТУРА / REFERENCIAS

1. Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 20: 447-453, 1974.
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 Cl 1: 343-359, 1976.
3. Malloy HT, Evelyn KA: J. Biol. Chem. 119: 481-490, 1937.
4. Walters MI and Gerarde HW, An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma, Microchemical Journal. 15: 231-243, 1970.
5. Henry, RJ, Editor, Clinical Chemistry, Principles and Technics, p.1058, Harper and Row, Publishers, Hagerstown, Maryland, 1974.
6. Quality of Diagnostic Samples, Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory medicine, 3rd completely revised ed. 2010.
7. Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders: 729-761, 1987.
8. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft: 192-202, 1998.
9. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1125-77, 1999.
10. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E.; 5th edition, WB Saunders Comp., 2012.
11. Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem, Nov;26(11): 783-790, 1988.

## USED SYMBOLS / ИСПОЛЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ / POUŽITÉ SYMBOLY / ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ / SÍMBOLOS UTILIZADOS



Catalogue Number  
Каталожный номер  
Katalogové číslo  
Каталожный номер  
Número de catálogo



Lot Number  
Номер партии  
Číslo šarže  
Номер партії  
Número de lote



Expiry Date  
Срок годности  
Datum expirace  
Термін придатності  
Fecha de caducidad



See Instructions for Use  
Перед использованием внимательно изучайте инструкцию  
Čtěte návod k použití  
Перед використанням уважно вивчіть Інструкцію  
Véanse las instrucciones de uso



In vitro diagnostic medical device  
Для *in vitro* диагностики  
Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*  
In vitro діагностика  
Dispositivo Médico para Diagnóstico *in Vitro* Solamente



Manufacturer  
Производитель  
Výrobce  
Виробник  
Fabricante



Storage Temperature  
Температура хранения  
Teplota skladování  
Температура зберігання  
Rango de Temperatura



Content  
Содержание  
Obsah  
Вміст  
Contenido



Національний знак відповідності для України

