

BIO-LACHEMA-TEST®

BILIRUBIN S**(BIL 100 S)**

Cat. No. 10003272

Store at
(+2 to +8) °C

Reagent Set for the determination of bilirubin in serum. The Set is sufficient for at least 100 analyses.

Principle

Bilirubin forms by coupling reaction with diazotized sulfanilic acid an azo-dye solution suitable for photometric determination. The determination of total bilirubin (free and direct) is performed in the presence of accelerator and the determination of direct (conjugated) bilirubin in the solution without the accelerator.

References

Fog, J.: Scand. Clin. Lab. Invest. 10, 241 (1958)
Meites, S., Hogg, C. K.: Clin. Chem. 5, 470 (1959)
Michaelson, M., Noslin, B., Sjölin, S.: Pediatrics 35, 925 (1965)

Reagents

1 Sulfanilic acid	(60 ml)
29 mmol/l in 170 mmol/l of hydrochloric acid	
2 Buffer	(120 ml)
0.93 mol/l of potassium-sodium tartrate in 1.9 mol/l solution of sodium hydroxide	
3 Accelerator	(120 ml)
caffeine 0.26 mol/l in 0.52 mol/l of sodium benzoate	
4 Sodium nitrite	(10 ml)
solution of 0.025 mol/l	
5 Bilirubin standard	
For preparation of a solution a µmol/l	(1 vial)
6 Albumin	
For preparation of a solution 20 g/l	(1 vial)

Composition of reaction mixture

Sulfanilic acid	2.40 mmol/l
Hydrochloric acid	13.90 mmol/l
Sodium benzoate	0.22 mol/l
Potassium-sodium tartrate	0.39 mol/l
Caffeine	0.11 mol/l
Sodium hydroxide	0.16 mol/l
Volume ratio of serum/reaction mixture	1/12

Reference values

fS Total bilirubin (µmol/l) up to 20.5
fS Direct (conjugated) bilirubin (µmol/l) up to 5.1
The range of reference values is only approximate, it is recommended to all laboratories to verify the extension of reference interval for their concrete examined population.

Calibration and quality control

For calibration it is recommended to use standard included in the set or:
BLT BILIRUBIN STANDARD, Cat. No. 10003139
BLT LYONORM CALIBRATOR, Cat. No. 10003200
For control it is recommended
BLT LYONORM HUM N, Cat. No. 10003204
BLT LYONORM HUM P, Cat. No. 10003206

Auxiliary solution (not included in the Set)

Physiological solution
Prepare by dissolving of 0.9 g of sodium chloride in 100 ml of distilled water.

Procedure**Keep samples away from direct light!****The determination of total bilirubin**

Samples: non-haemolytic serum, plasma (EDTA, heparinized)
Wavelength (580–620) nm, 1 cm cuvette, temperature (+15 to +25) °C.

Pipette (ml)	Control solution 1	Control solution 2	Sample
Reagent 1	0.20	0.20	0.20
Reagent 4	0.05	–	0.05
Reagent 3	1.00	1.00	1.00
Physiol. solution	0.20	0.05	–
Serum	–	0.20	0.20
Stir and within (10–50) min add			
Reagent 2	1.00	1.00	1.00
Stir and within 60 min read the absorbances of sample (A ₁) and control solution 2 (A ₂) against control solution 1 (blank).			

The determination of direct (conjugated) bilirubin

Samples: non-haemolytic serum, plasma (EDTA, heparinized)
Wavelength (510–550) nm, 1 cm cuvette, temperature (+15 to +25) °C.

Pipette (ml)	Control solution 1	Control solution 2	Sample
Reagent 1	0,20	0,20	0,20
Reagent 4	0,05	–	0,05
Physiol. solution	1,20	1,05	1,00
Serum	–	0,20	0,20
Stir and exactly after 5 min read the absorbances of sample (A ₁) and control solution (A ₂) against control solution 1.			

Bilirubin solution

Measure exactly 4.00 ml of distilled water into the vial with reagent 5 (bilirubin); close the vial and shake carefully to dissolve its contents. The solution contains exactly a µmol of bilirubin in 1 l.

Stability: approx. 3 days at (+2 to +8) °C in a dark place.

Albumin solution

Measure exactly 8.00 ml of distilled water into the vial with reagent 6 (albumin); dissolve its contents carefully while stirring. The solution contains approx. 20 g of albumin in 1 l.

Stability: minimum 1 week at (+2 to +8) °C in dark.

Preparation of calibration solutions

Solution Nr.	Bilirubin solution a µmol/l (ml)	Albumin solution (ml)	Final bilirubin concentration (µmol/l)
1	0.10	1.90	0.050 · a
2	0.25	1.75	0.125 · a
3	0.50	1.50	0.250 · a
4	0.75	1.25	0.375 · a
5	1.00	1.00	0.500 · a

a - bilirubin concentration, printed on the label of the vial with reagent 5

The calibration solutions are to be handled in the same way as the serum sample; create a calibration diagram.

Calibration

The content of bilirubin in the sample is read from the calibration curves plotted using calibration solutions prepared from the set or BIO-LA-TEST® BILIRUBIN STANDARD.

Pipette (ml)	Total bilirubin		Direct bilirubin	
	Control solution	Standard	Control solution	Standard
Reagent 1	0.20	0.20	0.20	0.20
Reagent 4	0.05	0.05	0.05	0.05
Reagent 3	1.00	1.00	1.00	1.00
Calibration solution	–	0.20	–	0.20
Solution of albumin	0.20	–	0.20	–
Stir and within (10–30) min add				
Reagent 2	1.00	1.00	–	–
Stir and within 60 min read the absorbance of standard against control solution.				

Plot the calibration curves as the dependence of the standard absorbances upon the bilirubin content in calibration solutions in µmol/l.

Calculation

The content of bilirubin in the sample is read from the calibration curves. For the calculation the absorbance difference of the sample and control solution 2 (A₁–A₂) is being used.

Stability and storage

Store the set at (+2 to +25) °C.

The expiration date is stated on the package.

Close the vial immediately after usage so that the evaporation or contamination of reagent does not occur.

Store at recommended temperature in the dark.

Notes

If the absorbance of the sample exceeds 0.8, repeat the analysis with serum diluted by physiological solution (result x dilution). If the determination is carried out without the analysis of control solution 2 (serum blank), falsely higher bilirubin values of approx. 2 to 14 µmol/l might be found in the sample, depending on the individual type of serum.

Health protection

For in vitro diagnostic use.

To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagent 1 contains corrosive hydrochloric acid in low concentration.

Reagent 2 contains corrosive sodium hydroxide (7.5%).

Reagent 4 contains sodium nitrite in low concentration - toxic, harmful and oxidizing substance.

First aid

At an accidental ingestion drink up approx. 0.5 l of water. At an eye contact flush immediately and thoroughly with large quantity of water. At a skin contact wash the skin with soap and warm water. In all serious cases of health damage contact the physician.

Waste disposal

All tested samples should be treated as potentially infectious and with the contingent rest of the reagents should be liquidated in accordance with any other local and national regulations relating to the safe handling of such materials.

Put packaging paper waste and rinsed containers to recycling.

Date of last revision: 19. 3. 2012

Produced Erba Lachema s.r.o.
Karásek 1d, 621 33 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@lachema.com, www.lachema.com

RU

IVD

БИО--ТЕСТ®**БИЛИРУБИН С****(BIL 100 S)**

Ном. номер 10003272

Хранить
(с +2 до +8) °С

Набор реактивов для 100 определений билирубина в сыворотке крови.

Принцип метода

Билирубин вступает в реакцию азосочетания с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием раствора азокрасителя, который фотометрируют.

Определение общего (неконъюгированного и прямого) билирубина проводят в растворе акцелератора, определение прямого (конъюгированного) билирубина – без акцелератора.

Литература

Fog, J.: Scand. Clin. Lab. Invest. 10, 241 (1958)

Meites, S., Hogg, C. K.: Clin. Chem. 5, 470 (1959)

Michaelson, M., Noslin, B., Sjölin, S.: Pediatrics 35, 925 (1965)

Реактивы

- Сульфаниловая кислота (60 мл)
раствор 29 ммоль/л в растворе хлористоводородной кислоты 170 ммоль/л
- Буферный раствор (120 мл)
натрий-калий виннокислый 0,93 моль/л
в растворе натрия гидроокись 1,9 моль/л
- Акцелератор (120 мл)
кофеин 0,26 моль/л,
натрий бензойноокислый 0,52 моль/л
- Натрий азотистокислый (10 мл)
раствор 0,025 моль/л
- Эталон билирубина (1 флакон)
для приготовления раствора a мкмоль/л
- Альбумин (1 флакон)
для приготовления раствора 20 г/л

Состав реакционной смеси

Сульфаниловая кислота	2,40 ммоль/л
Хлористоводородная кислота	13,90 ммоль/л
Натрий бензойноокислый	0,22 моль/л
Натрий-калий виннокислый	0,39 моль/л
Кофеин	0,11 моль/л
Натрия гидроокись	0,16 моль/л
Соотношение сыворотка/реакционная смесь	1/12

Референтные величины

Общий билирубин (мкмоль/л) до 20,5
Прямой билирубин (мкмоль/л) до 5,1
Приведенный диапазон референтных значений является ориентировочным. Рекомендуется каждой лаборатории вычислять свои диапазоны нормальных величин.

ВоспроизводимостьОколо $\pm 4\%$ **Калибровка и контроль**

Для калибровки рекомендуется использовать стандарт, входящий в состав набора или:

Био-ЛА-Тест® БИЛИРУБИН ЭТАЛОН, Ном. номер 10003139

Био-ЛА-Тест® ЛИОНОРМ ГУМ Н, Ном. номер 10003204

Био-ЛА-Тест® ЛИОНОРМ ГУМ П, Ном. номер 10003206

Вспомогательный раствор (не входит в состав набора)

Физиологический раствор

Приготавливают растворением 0,9 г хлорида натрия в 100 мл дистиллированной воды.

Проведение анализа**Пробы следует предохранять от прямого света!****Определение общего билирубина**

Длина волны (580–620) нм, кювета 1 см, температура (с +15 до +25) °С.

Отмерить (мл)	Контрольный раствор 1	Контрольный раствор 2	Проба
Реактив 1	0,20	0,20	0,20
Реактив 4	0,05	–	0,05
Реактив 3	1,00	1,00	1,00
Физиолог. раствор	0,20	0,05	–
Сыворот. крови	–	0,20	0,20
Перемешивают и в течение (10–50) мин добавляют			
Реактив 2	1,00	1,00	1,00
Перемешивают и в течение 5–60 мин измеряют оптическую плотность пробы (A ₁) и контрольного раствора (A ₂) против контрольного раствора 1.			

Определение прямого билирубина

Длина волны (510 – 550) нм, кювета 1 см, температура (с +15 до +25) °С.

Отмерить (мл)	Контрольный раствор 1	Контрольный раствор 2	Проба
Реактив 1	0,20	0,20	0,20
Реактив 4	0,05	–	0,05
Физиолог. раствор	1,20	1,05	1,00
Сыворот. крови	–	0,20	0,20
Перемешивают и точно через 5 мин измеряют оптическую плотность пробы (A ₁) и контрольного раствора (A ₂) против контрольного раствора 1.			

Калибровка

Приготовление рабочих растворов для калибровки

Раствор билирубина

Во флакон с Реактивом 5 (билирубин) отмеривают точно 4,00 мл дистиллированной воды, флакон закрывают и его содержимое растворяют, осторожно перемешивая. Раствор содержит точно a мкмоль билирубина/л. При температуре (+2 - +8) °С в темноте раствор устойчив примерно 3 дня.

Раствор альбумина

Во флакон с Реактивом 6 (альбумин) отмеривают точно 8,00 мл дистиллированной воды и его содержимое растворяют при осторожном перемешивании. Раствор содержит около 20 г альбумина/л. При температуре (+2 - +8) °С раствор устойчив минимально 1 неделю.

Приготовление калибровочных растворов

Раствор №	Раствор билирубина a мкмоль/л (мл)	Раствор альбумина (мл)	Конечная концентрация билирубина (мкмоль/л)
1	0,10	1,90	0,050 · a
2	0,25	1,75	0,125 · a
3	0,50	1,50	0,250 · a
4	0,75	1,25	0,375 · a
5	1,00	1,00	0,500 · a

a – концентрация билирубина, приведенная на этикетке флакона с Реактивом 5.

С растворами для калибровки работают таким же образом как с пробой сыворотки и строят калибровочные графики

Отмерить (мл)	Общий билирубин		Прямой билирубин	
	Контрол. раствор	Эталон	Контрол. раствор	Эталон
Реактив 1	0,20	0,20	0,20	0,20
Реактив 4	0,05	0,05	0,05	0,05
Реактив 3	1,00	1,00	1,00	1,00
Калибровоч. раствор	–	0,20	–	0,20
Раствор альбумина	0,20	–	0,20	–
Перемешивают и в течение (10–30) мин добавляют				
Реактив 2	1,00	1,00	–	–
Перемешивают и в течение 60 мин измеряют оптическую плотность эталона против раствора сравнения.				

Строят калибровочные графики как зависимость оптической плотности от содержания билирубина в калибровочном растворе в мкмоль/л.

Содержание билирубина в пробе отсчитывают по калибровочным графикам, построенным с помощью калибровочных растворов.

Расчет

Содержание билирубина в пробе отсчитывают по калибровочным графикам. Для расчета берут разность оптических плотностей пробы и контрольного раствора 2 (A₁–A₂).

Предупреждение

Если оптическая плотность пробы превышает 0,8, сыворотку разводят физиологическим раствором и анализ проводят повторно (результат \times разведение). Если при анализе не измеряется контрольный раствор 2 (сывороточный слепок), полученные результаты могут быть завышенными даже на (2–14) мкмоль/л, в зависимости от типа сыворотки крови.

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реактив 1 содержит в низкой концентрации соляную кислоту, являющийся едким веществом. Реактив 2 содержит гидроокись натрия, являющийся едким веществом. Реактив 4 содержит в низкой концентрации нитрит натрия, являющийся едким, опасным для здоровья и окисляющим веществом.

Оказание первой помощи

При приеме внутрь следует выпить приблизительно 0,5 л воды.

При попадании в глаза их следует промывать минимально 10 мин в токе воды.

При попадании на кожу ее следует вымыть проточной водой. Пострадавшему должна быть оказана квалифицированная медицинская помощь.

Ликвидация мусора

Все тестированные пробы считают материалом, который может быть инфицирован, и совместно с возможными остатками реактивов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.

Бумажную упаковку сдайте в макулатуру, выполосканую заводскую тару в сортированный мусор.

Дата проведения последнего контроля: 19. 3. 2012

В случае любых вопросов обращайтесь в Представительство Erba Lachema s.r.o. в Москве.

Тел/факс: 095-755 78 51, 095-755 55 80.

Выпускает Erba Lachema s.r.o.

Карасек 1d, 62133 Брно, CZ

e-mail: diagnostics@lachema.com, www.lachema.com