

BILIRUBIN

TOTAL AND DIRECT
Colorimetric method

END POINT

REF CT10082 RD. 3 x 50 mL CONTENTS RD.Reagent 3 x 40 mL RN.Reagent 3 x 10 mL	REF CT10085 RD. 12 x 50 mL CONTENTS RD.Reagent 12 x 40 mL RN.Reagent 12 x 10 mL	REF CT10092 RT. 3 x 50 mL CONTENTS RT.Reagent 3 x 40 mL RN.Reagent 3 x 10 mL	REF CT10095 RT. 12 x 50 mL CONTENTS RT.Reagent 12 x 40 mL RN.Reagent 12 x 10 mL
For <i>in vitro</i> diagnostic use only			

SUMMARY

Bilirubin is converted to coloured azobilirubin by diazotized sulfanilic acid and is measured photometrically. Of the two bilirubin fractions in serum –bilirubin-glucuronide and free bilirubin which is bound to albumin– only the former reacts directly, while free albumin reacts after being displaced from protein by an accelerator. The difference of two measurements total bilirubin (with accelerator) and direct bilirubin (without accelerator) enables to calculate indirect bilirubin. The terms «direct» and «indirect» bilirubin refers exclusively to the reaction characteristics in the presence or absence of an accelerator or solubilizer and are only approximate equivalents of the two bilirubin fractions.^{1,2}

REAGENTS

RT. Sulfanilic acid 29 mmol/L, HCl 0.24 mol/L, Duposol® 3% (w/v).


RD. Sulfanilic acid 29 mmol/L, HCl 0.24 mol/L.

RN. Sodium nitrite 11.6 mmol/L.

PREPARATION

The Reagents are ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

 Store at 2-8°C. The Reagents are stable until the expiry date stated on the label. On board the reagents are stable 30 days. After daily use stored tightly closed and protected from light.

Discard if appear signs of deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 540 nm > 0.050 in 1cm cuvette.
- Reagent **RN** if it develops a yellow coloration.

SAMPLE COLLECTION

Fresh hemolysis-free serum, EDTA or heparinized plasma. Store in the dark until use.

Samples can be frozen at -15°C or below in which case bilirubin is stable for 2 months.

INTERFERENCES

- Lipemia (intralipid < 5 g/L) does not interfere.
- Direct Bilirubin (Hemoglobin 2 g/L) may affect the results.
- Total Bilirubin (Hemoglobin 16 g/L) does not interfere.
- Other drugs and substances may interfere³.
- Lipemic samples interfere with the assay. The interference can be corrected by preparing a sample blank before applying the general formula of calculation.

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- LIDA analyzer.
- Laboratory equipment.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Multicalibrator CC/H 10x3 mL Ref. CT19750

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test.

Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method.

It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

Recalibrate weekly (Bilirubin T) or every 2 days (Bilirubin D), when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument. Two point calibration is recommended (S1: NaCl 9 g/L and S2: Calibrator). A reagent blank should be run daily before sample analysis.

RESULTS

Samples with concentrations higher than 20 mg/dL should be diluted 1:2 with saline and assayed again. Multiply results by 2.

If results are to be expressed as SI units apply: mg/dL x 17.1 = µmol/L

EXPECTED VALUES ⁴

ADULTS Total Up to 1.0 mg/dL	Direct Up to 0.2 mg/dL
------------------------------	------------------------

NEWBORNS (TOTAL BILIRUBIN)

Age	Premature	Full- term
Up to 24 h	1.0-6.0 mg/dL	2.0-6.0 mg/dL
Up to 48 h	6.0-8.0 mg/dL	6.0-7.0 mg/dL
3-5 days	10.0-15.0 mg/dL	4.0-12.0 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) with assayed values handled as unknowns.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Hyperbilirubinemia (an abnormal elevation of bilirubin, whether conjugated or unconjugated) in plasma is an indication of a disturbance in bilirubin metabolism. This condition is caused either by an overproduction of bilirubin or by an impairment in the metabolic pathway.

The increase in bilirubin production is usually caused by a rapid destruction of erythrocytes, resulting from blood diseases such as haemolytic anemia.

In newborns the increase in bilirubin may be caused by Rh, ABO, or other blood group incompatibility, by sepsis, hepatic immaturity, or by a variety of hereditary defects in bilirubin conjugation.

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

1. Walters, M.I. and Gerarde, H.W. Microchemical Journal. 15, 231 (1970).
2. Pearlman, F.C. and Lee, R.T.Y. Clin. Chem. 20/4, 447 (1974).
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, p.940. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.

CT1008-09-2/0811



BILIRRUBINA

TOTAL Y DIRECT

Método colorimétrico

PUNTO FINAL

REF CT10082 RD. 3 x 50 mL CONTENIDO RD.Reactivo 3 x 40 mL RN.Reactivo 3 x 10 mL	REF CT10085 RD. 12 x 50 mL CONTENIDO RD.Reactivo 12 x 40 mL RN.Reagent 12 x 10 mL	REF CT10092 RT. 3 x 50 mL CONTENIDO RT.Reactivo 3 x 40 mL RN.Reactivo 3 x 10 mL	REF CT10095 RT. 12 x 50 mL CONTENIDO RT.Reactivo 12 x 40 mL RN.Reactivo 12 x 10 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

FUNDAMENTO

El ácido sulfanílico diazotado transforma la bilirrubina en azobilirrubina coloreada que se determina fotométricamente. De las dos fracciones de bilirrubina presentes en suero, glucuronato de bilirrubina y bilirrubina libre asociada a albúmina, sólo reacciona directamente la primera, mientras que la bilirrubina libre precisa ser disociada de la proteína por un acelerador para que reaccione. La bilirrubina indirecta se calcula por diferencia entre la bilirrubina total (con acelerador) y la directa (sin acelerador).

Los conceptos «directa» e «indirecta» se refieren exclusivamente a las características de reacción en presencia o ausencia de aceleradores o solubilizantes y equivalen sólo de forma aproximada a las dos fracciones de bilirrubina citadas.^{1,2}

REACTIVOS

RT. Acido sulfanílico 29 mmol/L, HCl 0,24 mol/L, Duposol® 3% (p/v).

RD. Acido sulfanílico 29 mmol/L, HCl 0,24 mol/L.

RN. Nitrito sódico 11,6 mmol/L.

PREPARACIÓN

Los Reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantener bien cerrado y protegido de la luz. En el analizador son estables 30 días.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 540 nm > 0,050 en cubeta de 1 cm.
- El reactivo **RN** si desarrolla una coloración amarilla.

MUESTRAS

Suero reciente libre de hemólisis o plasma heparinizado u obtenido con EDTA. Proteger de la luz hasta su ensayo. En estas condiciones es estable 2 días a 2-8°C.

Las muestras pueden congelarse a una temperatura de -15°C o inferior, en cuyo caso la bilirrubina es estable durante 2 meses.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (intralipid < 5 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina Directa (Hemoglobina 2 g/L) puede afectar los resultados.
- Bilirrubina Total (Hemoglobina 16 g/L) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.³
- Muestras altamente lipémicas interfieren en el ensayo. La interferencia puede corregirse preparando un blanco de muestra antes de aplicar la fórmula general de cálculo.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador LIDA.
- Material de laboratorio.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Multicalibrator CC/H 10x3 mL Ref. CT19750

TECNICA AUTOMATICA

Una representación grafica visualiza los ajustes específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

CALIBRACION

Recalibrar semanalmente (Bilirrubina T) o cada 2 días (Bilirrubina D), al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento. Se recomienda la Calibración de dos puntos (M1: C1Na 9 g/L y M2: Calibrador). Realizar un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras. Se recomienda hacer un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

CALCULOS

Muestras con concentraciones superiores a 20 mg/dL deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2. Para expresar los resultados en unidades SI: mg/dL x 17,1 = µmol/L

VALORES DE REFERENCIA⁴

ADULTOS Total Hasta 1,0 mg/dL	Directa Hasta 0,2 mg/dL
-------------------------------	-------------------------

RECIEN NACIDOS (BILIRRUBINA TOTAL)

Edad	Prematuros	A término
Hasta 24 h	1,0-6,0 mg/dL	2,0-6,0 mg/dL
hasta 48 h	6,0-8,0 mg/dL	6,0-7,0 mg/dL
3-5 días	10,0-15,0 mg/dL	4,0-12,0 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

La *hiperbilirrubinemia* (elevación anormal de la bilirrubina tanto conjugada como no conjugada) es indicativa de una alteración fisiológica de la bilirrubina. Esta condición está originada por una sobreproducción de bilirrubina o por una alteración de su ciclo metabólico.

El aumento de la producción de bilirrubina se origina generalmente por una destrucción rápida de los hematíes como resultado de alteraciones sanguíneas tales como la anemia hemolítica.

En recién nacidos el aumento del nivel de bilirrubina puede deberse a una incompatibilidad de grupos sanguíneos (Rh, ABO u otros), sepsis, inmadurez hepática, o a diversos defectos hereditarios.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

REFERENCIAS

1. Walters, M.I. y Gerarde, H.W. Microchemical Journal. 15, 231 (1970).
2. Pearlman, F.C. y Lee, R.T.Y. Clin. Chem. 20/4, 447 (1974).
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, p.940. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.





Aplicaciones en LIDA 300
Applications on LIDA 300

BILIRUBIN (DIRECT)

Two reagents method

Bilirubin (Direct) (3 x 50 mL), Code CT10082
Bilirubin (Direct) (12 x 50 mL), Code CT10085

USO
USE

Reactivo de diagnóstico *in vitro* para la determinación de la bilirrubina total en suero o plasma.
In vitro diagnostic reagent for the determination of total bilirubin in serum or plasma.

METODO
METHOD

Colorimétrico
Colorimetric

MUESTRA
SAMPLE

Suero, plasma heparinizado u obtenido con EDTA
Serum, EDTA or heparinized plasma

REACTIVOS
REAGENTS

Los reactivos RD y RN están listos para su uso.
*The reagents **RT** and **RN** are ready to use.*

CALIBRADOR
STANDARD

Linear Multicalibrador CC/H, Code CT19750

CONTROL CALIDAD
QUALITY CONTROL

Linear Human Multisera Normal CT19800
Linear Human Multisera Abnormal CT19850

DETERMINACIONES
NUMBER OF TESTS

476 tests/kit, Code CT10082
1.900 tests/kit, Code CT10085
(no se considera el volumen muerto)
(dead volume is not taken in consideration)

LINEALIDAD
LINEARITY

Hasta 20 mg/dL (342 µmol/L)
Up to 20 mg/dL (342 µmol/L).

NOTA
NOTE

Para más información lea el prospecto del reactivo.
For additional information read reagent packaging insert.

NOTA DE AVISO
WARNING

La aplicación incluida se da solamente como pauta. Cualquier aplicación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método.
The reported application is given only as a guideline. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method.



CALIBRATION PARAMETERS

Rule:	Linear (two points)	Calibrator 1:	Deionized Water
Factor K		Calibrator 2:	Multicalibrator
Replicates	1	Calibrator 3:	
Interval		Calibrator 4:	
Sensitivity		Calibrator 5:	
Coefficient		Calibrator 6:	
Error Limit			
Blank response			
Difference Limit			
SD			

TEST PARAMETERS

No.		
Test	DBIL	
Method	Endpoint	
Direction	Ascend	
Unit	mg/dL	
Decimals	2	
Prim. Wave.	546	
Sec. Wave.	670	
Sample Vol. (µL)	20	
R1 Vol. (µL)	250	
R2 Vol. (µL)	65	
Line. Limit	20	
Incubation	15	
Reaction	- 1	6
Antigen	<input type="checkbox"/> Check Antigen	
Substrate	0	
Response	L Limit 0	U Limit 0
S. Volume	0	
Ratio	0	
R1 Blank	L Limit 0	U Limit 0
Mix. R Blank	L Limit 0	U Limit 0
Linearity	L Limit 0	U Limit 20
Full Name	DBILIRUBIN	
Print No.		

For other instrument software version please contact with LINEAR.