

BILIRUBIN DIRECT

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00009	BIL D 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 direct 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. Important for monitoring in neonates. 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 reacts with diazotized sulphanilic acid in a strongly acidic medium and form an intensely coloured diazo dye – azobilirubin^{1,2,3,4,5}.



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

REAGENT DESCRIPTION AND COMPOSITION

R1		R2	
Sulphanilic acid	28.9 mmol/L	Sodium nitrite	2.9 mmol/L
HCl	23.0 mmol/L		

COMPOSITION OF REACTION MIXTURE

Sulphanilic acid	22.0 mmol/L
HCl	17.5 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 K₂-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^{6,7}:	2 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 Doumas method¹¹.

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

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

$$2. \text{ Using factor (f):} \quad \text{Direct Bilirubin (mg/dL)} = A_{\text{sam}} \times f \quad f = 16$$

ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

Mode	End point	Normal Low (mg/dL)	0
Wavelength 1 (nm)	546	Normal High (mg/dL)	0.2
Wavelength 2 (nm)	670	Linearity Low (mg/dL)	0.04
Sample Volume (μL)	25/50	Linearity High (mg/dL)	20.5
Working Reagent Volume (μL)	500/1000	Factor	16
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 VALUES¹²

In serum:

Adults and infants: 0–0.2 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: 0.04 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: 20.5 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	0.59	0.005	0.80
Sample 2	1.56	0.013	0.82

Intermediate precision	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Sample 1	0.55	0.012	2.27
Sample 2	1.62	0.033	2.01

Accuracy

Two different validated control materials were used. Determined bias is and 6.1 % at the target value 0.35 mg/dL and 7.9 % at the target value 0.99 mg/dL.

Comparison

A comparison between XL-640 automatic system BILIRUBIN DIRECT (y) and a commercially available test (x) using 120 samples gave following results:

Linear regression:

$$y = 0.922x + 0.154 \text{ mg/dL} \quad r = 0.992$$

$$\text{Passing-Bablok}^{13}: \quad y = 0.993x + 0.134 \text{ mg/dL} \quad r = 0.882$$

Interferences

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

Following substances do not interfere: haemoglobin up to 3 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: U61F-WEUA-9H7R-X1MU



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 прямой

Кат.№	Фасовка
BLT00009	R1: 4 × 40 мл, R2: 1 × 40 мл



Применение

Набор предназначен для прямого фотометрического количественного определения билирубина *in vitro* в сыворотке и плазме на различных автоматических системах. В сочетании с другими параметрами он предназначен для скрининга, мониторинга и диагностики заболеваний печени. А также, для наблюдения за новорожденными. Только для профессионального использования в клинической лаборатории.

Клиническое значение

Билирубин – продукт распада гемоглобина. Эритроциты в конце срока их циркуляции разрушаются в ретикулоэндотелиальной системе, в основном, в селезенке. Полученный гем, после удаления железа, превращается в билирубин. На этот процесс (превращения) приходится около 80% от 500 мкмоль (292 мг) билирубина, образующегося ежедневно. Другими источниками билирубина является распад миоглобина и цитохромов, а также катаболизм незрелых красных кровяных телец в костном мозге. После образования, билирубин транспортируется в печень, в связанном виде с альбумином. Эта фракция билирубина называется непрямым или конъюгированным билирубином. В печени билирубин конъюгируется с глюкуроновой кислотой (моно- и диглюкуронидами) под действием фермента уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы с образованием конъюгированного билирубина. Конъюгированный билирубин или прямой билирубин выводится через билиарную систему в кишечник. Там он метаболизируется бактериями в стеркобиноген. Экскреция почти полная, при этом уровень в сыворотке не высокий (незначительный). Общий билирубин представляет собой сумму конъюгированной и конъюгированной фракций. Общий билирубин повышен при гепатите, циррозе, гемолитических нарушениях, при некоторых наследственных дефицитах ферментов и состояниях, вызывающих obstruction печени. ОБЩИЙ БИЛИРУБИН = НЕПРЯМОЙ БИЛИРУБИН + ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН

Принцип

Билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой в сильнокислой среде с образованием интенсивно окрашенного диазокрасителя – азобилирубина.^{1,2,3,4,5}

Билирубин + Диазотированная сульфаниловая кислота $\xrightarrow{\text{Кислая среда}}$ Азобилирубин
Поглощение азобилирубина, измеренное при 546 нм, пропорционально концентрации прямого билирубина в образце.

Описание и состав реагентов

Реагент 1		Реагент 2	
Сульфаниловая кислота	28,9 ммоль/л	Нитрит натрия	2,9 ммоль/л
HCl	23,0 ммоль/л		

Состав реакционной смеси

Сульфаниловая кислота	22,0 ммоль/л
HCl	17,5 ммоль/л
Нитрит натрия	0,55 ммоль/л

Подготовка реагентов

Реагенты жидкие, готовые к использованию. Приготовить рабочий реагент, смешав 4 части реактива Р1 с 1 частью реагента Р2.

Необходимые материалы, не поставляемые в комплекте:

Анализатор с температурным контролем 37 ±0,5 °С, с возможностью точного вывода длины волны 546 нм. Необходимое общее лабораторное оборудование и расходные материалы.

Стабильность и хранение

Не вскрытые флаконы реагентов стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона и набора, при хранении при температуре 2–8 °С. Рабочий реагент стабилен 7 суток, при температуре 2–8 °С, при хранении в защищенном от загрязнения и света месте. Рекомендуется готовить рабочий раствор перед проведением анализа.

Сбор образцов и обработка

Рекомендуется проводить сбор и обработку образцов в соответствии с ISO 15189 и лабораторными инструкциями.

Для сбора и подготовки образцов используйте только специальные пробирки и контейнеры для сбора. Только образцы, перечисленные ниже, были протестированы и разрешены для проведения исследования Это:

- Сыворотка
 - Плазма (Li-гепарин и K₂-ЭДТА плазма)
- Перечисленные выше типы образцов были испытаны с набором пробирок для сбора образцов, которые были коммерчески доступны на момент проведения испытаний, т.е. протестированы пробирки не всех производителей. Системы сбора проб разных производителей могут содержать разные материалы, это в некоторых случаях, может влиять на результаты исследования. При обработке проб в первичных пробирках (системах сбора проб), необходимо следовать инструкциям производителя пробирок. Образцы, содержащие осадок, центрифугируют перед проведением анализа. См. раздел «Ограничения и интерференция» для получения подробной информации о возможных интерференциях образцов.

Стабильность в сыворотке / плазме ^{6,7} :	2 дня при	15–25 °С
	7 дней при	4–8 °С
	6 месяцев при	-20 °С

Защитайте образцы от света. Утилизируйте зараженные (загрязненные) образцы.

Калибровка

Мы рекомендуем для калибровки использовать калибратор ЭРБА XL МУЛЬТИКАЛИБРАТОР 4х3, кат. № XSYS0034 или ЭРБА XL МУЛЬТИКАЛИБРАТОР 10х3, кат. № XSYS0122
Рекомендовано: 2-точечная калибровка с (холостой пробой и калибратором); дистиллированная вода рекомендуется в качестве бланка (холостая проба)
Частота калибровки: рекомендуется делать калибровку
• после смены партии реагента
• в соответствии с внутренними процедурами контроля качества

Контроль качества

Для контроля качества ЭРБА НОРМА 4х5, кат. № BLT00080 или ЭРБА НОРМА 10х5, кат. № XSYS0123 и ЭРБА ПАТОЛОГИЯ 4х5, кат. № BLT00081 или ЭРБА ПАТОЛОГИЯ 10х5, кат. № XSYS0124. Контрольные интервалы и пределы измерения должны быть адаптированы в соответствии с требованиями конкретной лаборатории. Измеренные значения должны попадать в заданные контрольные интервалы. Каждая лаборатория должна установить правила коррекции, которые следует применять, если значения выходят за установленные пределы.

Прослеживаемость

Калибратор ЭРБА XL МУЛЬТИКАЛИБРАТОР и контроли ЭРБА НОРМА и ЭРБА ПАТОЛОГИЯ стандартизированы, в сравнении методом Дуома (Duomas)¹¹.

Проведение анализа

Длина волны: 546 / 670 нм
Оптический путь: 1 см

Пипетирование	Бланк	Калибратор	Образец
Реагент	1,00 мл	1,00 мл	1,00 мл
Дистил. вода	0,05 мл		–
Стандарт/Калибратор*	–	0,05 мл	–
Образец	–	–	0,05 мл

Смешать. Инкубировать 5 мин при 37°С. Измерить поглощение калибратора и образца при 546/670нм против бланка по реагенту.

Расчет

- Билирубин прямой (мг/дл) = $\frac{\Delta A_{\text{обр.}}}{\Delta A_{\text{кал.}}} \times \text{конц. Кал. (мг/дл)}$
- Расчет по фактору:
Билирубин прямой (мг/дл) = $\Delta A \times 16$ (Фактор)

Параметры для работы на анализаторе

Метод	Конечная точка	Нижний предел нормы(мг/дл)	0
Длина волны1 (нм)	546	Верхний предел нормы (мг/дл)	0,2
Длина волны1 2 (нм)	670	Нижний предел линейности(мг/дл)	0,04
Объем образца (мкл)	25/50	Верхний предел линейности (мг/дл)	20,5
Объем реагент (мкл)	500/1000	Фактор	16
Время инкубации (мин)	5	Бланк по	Реагент
Температура инкубации (°C)	37	Начальное поглощение реагента (Макс.)	0,15
Направление реакции	Увеличение	Единицы	мг/дл

Коэффициент пересчета

мг/дл × 17,1 = мкмоль/л

Нормальные величины¹²

Билирубин прямой

Дети и Взрослые: 0–0,2 мг/дл (0–3,39 мкмоль/л)

Аналитические характеристики

Значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах ERBA XL-640. Данные, могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.

Предел количественного определения:

0,04 мг/дл

Предел количественного определения представляет собой самый низкий измеримый уровень аналита. Он рассчитывается как определенная активность разбавленного образца с CV <20% (n = 30).

Линейность:

20,5 мг/дл

Линейность – это самая высокая измеренная концентрация с восстановлением в пределах ±10 % от теоретического значения.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость определяли с использованием контролей во внутреннем протоколе с повторяемостью (n = 20) и промежуточной точностью (2 образца за измерение, 2 измерения в день, 20 дней). Были получены следующие результаты:

Внутрисерийная	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Образец 1	0,59	0,005	0,80
Образец 2	1,56	0,013	0,82

Межсерийная	Среднеарифметическое значение (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Образец 1	0,55	0,012	2,27
Образец 2	1,62	0,033	2,01

Точность

Были использованы два разных контрольных материала. Определенная погрешность составила 6,1% при целевом значении 0,35 мг/дл и 7,9% при целевом значении 0,99 мг/дл.

Сравнение

Сравнение 120 образцов было проведено на анализаторе ERBA XL-640 с использованием набора Билирубин прямой (у) и имеющихся в продаже коммерческих реагентов доступной методикой (х) для исследования Билирубина прямого, дало следующие результаты.

Линейная регрессия:

y = 0,922x + 0,154 мг/дл

r = 0,992

Passing-Bablok (по методу Пассинга и Баблока):

y = 0,993x + 0,134 мг/дл

r = 0,882

Влияющие вещества

Критерий: Восстановление в пределах ±10% от исходного значения концентрации прямого билирубина в образце без влияющих веществ

Гемоглобин до 3 г/л, триглицериды до 850 мг/дл не влияют на результаты.

Ограничения:

- Испорченные реагенты (например, превышение температуры хранения) могут давать неверные результаты. Максимальная допустимая абсорбция бланка реагента, измеренная при 546 нм относительно дистиллированной воды, должна составлять 0,15.
- Высокая концентрация гемоглобина и триглицеридов в образце может мешать определению прямого билирубина. См. Влияющие вещества.

Предупреждение и меры предосторожности

Для *in vitro* диагностики. Исследование должно проводиться уполномоченным и профессионально подготовленным сотрудником.

О любом серьезном происшествии, произошедшем во время проведения исследования необходимо сообщать производителю и компетентному органу государства, в котором находится пользователь и/или пациент.

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

R1

UF1: U61F-WEUA-9HTX-X1MU



Опасно

Обозначение опасности:

H314 Вызывает сильные ожоги кожи и повреждения глаз.

Меры предосторожности:

P260 Не вдыхать пары.

P280 Пользоваться защитными перчатками/ защитная одежда/защитные очки/щиток для защиты лица.

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 принять душ.

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 4-Аминобензолсульфоновая кислота. Может вызывать аллергическую реакцию.

R2

Реагент не классифицируется как опасный.

Утилизация отходов

Согласно с требованиями местного законодательства.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
BLT00009	Эрба Билирубин прямой	ФСЗ 2011/09958	от 14.05.2019



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

N/54/23/IN/NT

Дата проведения контроля: 21. 2. 2023

BILIRUBIN DIRECT

Kat. č.	Název	Balení
BLT00009	BIL D 200	R1: 4 × 40 ml, R2: 1 × 40 ml, návod k použití



ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro *in vitro* stanovení přímého bilirubinu v lidském séru a plazmě na různých automatických systémech. V kombinaci s dalšími parametry je určen pro screening, monitorování a diagnostiku onemocnění jater. Důležité pro monitoring u novorozenců. 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 uridyldifosfátglukuronyltransferázou 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 sterobilinogen. 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 kyselé prostředí s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku intenzivně zbarveného azobilirubinu^{1,2,3,4,5}.

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

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1	R2
Kyselina sulfanilová HCl	Dusitan sodný
28,9 mmol/l 23,0 mmol/l	2,90 mmol/l

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

Kyselina sulfanilová HCl	22,0 mmol/L 17,5 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 NEDODÁVÁNÝ 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 zkumavky nebo odběrové nádoby. Pouze níže uvedené vzorky byly testovány a jsou přijatelné: Sérum. Plazma: Li-heparinizovaná a K₂-EDTA plazma. Uvedené druhy vzorků byly testovány s vybranými typy odběrových zkumavek, které byly komerčně dostupné v dané době, tzn. že do testu nebyly zařazeny všechny typy zkumavek 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 zkumavkách (systémy odběru vzorků) dodržujte pokyny jejich výrobce. Před provedením testu oddělte sraženiny ve vzorcích centrifugací. Podrobnosti o možných omezeních naleznete v sekci Interference.

Stabilita v séru / plazmě ^{6,7} :	2 dny 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 Doumasově metodě¹¹.

POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka: 546 / 670 nm
Kvyeta: 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_{vz} a kalibrátoru A_{kal} vůči reagenčnímu blanku.

VÝPOČET

- Celkový nebo přímý bilirubin (μmol/l) = $\frac{A_{vz}}{A_{kal}} \times C_{kal}$ C_{kal} = hodnota v kalibrátoru
- Použití faktoru (f):
Přímý bilirubin (μmol/l) = A_{vz} × f f = 274

PARAMETRY MĚŘENÍ PRO FOTOMETRY

Režim	End point	Normální dolní hodnota (μmol/l)	0
Vlnová délka 1 (nm)	546	Normální horní hodnota (μmol/l)	3,4
Vlnová délka 2 (nm)	670	Dolní mez stanovitelnosti (μmol/l)	0,71
Objem vzorku (μL)	25/50	Linearita (μmol/l)	351
Objem pracovního roztoku (μl)	500/1000	Faktor	274
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 HODNOTY¹²

Sérum:

Dospělí a děti: 0–3,4 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:

0,71 μmol/l
Dolní mez stanovitelnosti označuje nejnižší měřitelnou hodnotu analytu. Je vypočítána jako stanovená aktivita zředěného vzorku s CV <20 % (n = 30)

Linearita:

351 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 mezilehou přesností (2 alikvoty v jednom měření, 2 měření denně, 20 dní). Byly získány následující výsledky:

Opakovatelnost	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)	Mezilehlá přesnost	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	10,1	0,08	0,80	Vzorek 1	9,7	0,21	2,27
Vzorek 2	26,7	0,22	0,82	Vzorek 2	27,7	0,56	2,01

Správnost

Přesnost byla stanovena použitím kontrolních materiálů. Stanovený bias je 6,1 % pro hodnotu 5,99 μmol/l a 7,9 % pro hodnotu 16,9 μmol/l.

Srovnání

Hodnoty přímého bilirubinu, stanovené na automatickém systému XL-640 (y) byly porovnány s komerčně dostupným testem (x) na 120 vzorcích.

Lineární regrese:
y = 0,922x + 2,63 μmol/l r = 0,992

Passing-Bablok¹³:
y = 0,933x + 2,29 μmol/l r = 0,882

INTERFERENCE

Kritérium: výtěžnost v rámci ±10 % počáteční hodnoty koncentrace přímého bilirubinu ve vzorku bez interferujících látek. Následující analyty neinterferují: hemoglobin do 3 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

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.

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

R1

UF: U61F-WEUA-9HT-R-X1MU



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. Vyměňte 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 ПРЯМИЙ

Кат. номер	Назва	Фасування
BLT00009	БІЛІРУБІН ПРЯМИЙ 200	R1: 4 × 40 мл, R2: 1 × 40 мл, інструкція із застосування

UA

ЗАСТОСУВАННЯ

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

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

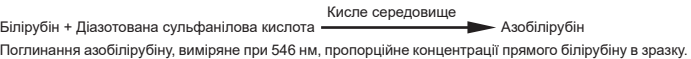
Наприкінці свого життєвого циклу в крові еритроцити розщеплюються на гем у ретикулоендотеліальній системі, особливо в селезінці. Отриманий гем після видалення заліза перетворюється на білірубін. На цей процес припадає близько 80% 500 мкмоль (292 мг) білірубину, що виробляється щодня. Інші джерела білірубину 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 білірубину називається непрямою або незв'язаним білірубіном. У печінці білірубін зв'язується з глюкуроновою кислотою (моно- і диглюкуронідами) за допомогою ферменту уридиндифосфатилу куролітрансферази з утворенням зв'язаного білірубину. 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 білірубину в сироватці звичайний незначний.

Загальний білірубін - це сума некон'югованої та кон'югованої фракцій. Загальний білірубін підвищується при гепатиті, цирозі печінки, гемолітичних захворюваннях, ряді спадкових ферментальних недостатностей і станах, що викликають обструкцію печінки.

ЗАГАЛЬНИЙ БІЛІРУБІН = НЕПРЯМИЙ БІЛІРУБІН + ПРЯМИЙ БІЛІРУБІН

ПРИНЦИП РЕАКЦІЇ

Білірубін реагує в сильно кислом середовищі з діазотованою сульфаніловою кислотою з утворенням інтенсивно відщепленого азокварника – азобілірубину^[2,3,4,5].



СКЛАД РЕАГЕНТІВ

R1		R2	
Сульфанілова кислота	28,9 ммоль/л	Нітрит натрію	2,9 ммоль/л
NaCl	23,0 ммоль/л		

СКЛАД РЕАКЦІЙНОЇ СУМІШІ

Сульфанілова кислота	22,0 ммоль/л
NaCl	17,5 ммоль/л
Нітрит натрію	0,55 ммоль/л

СКЛАД РЕАГЕНТІВ

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

МАТЕРІАЛ НЕОБХІДНИЙ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЄТЬСЯ З ПРИСТРОЄМ

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

СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Невідкриті реактиви, які зберігаються при 2–8°C, стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на пакуванні. Робочий розчин стабільний протягом 7 днів 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 K₂-EDTA плазма.

Згадані типи зразків були протестовані з вибраними типами пробірок для проб, які були комерційно доступними на той час, тобто не всі пробірки від усіх виробників були включені в аналіз. Системи відбору проб від різних виробників можуть містити різні матеріали, що в деяких випадках може мати значний вплив на результати. Дотримуйтеся інструкцій виробника під час роботи зі зразками в первинних пробірках (системах відбору проб).

Перед виконанням аналізу відокремте осад у зразках центрифугуванням. Докладні відомості про можливі обмеження див. у розділі Перешкоди.

Стабільність у сироватці/плазмі ^{6,7}	2 дні 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 (біланк і калібратор); дистильована вода рекомендується як біланк. 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 методом Doumas¹¹.

ПРОЦЕДУРА ВИМІРЮВАННЯ

Довжина хвилі: 546 / 670 нм
Кювета: 1 см

	Біланк реактиву	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_{зр} і калібратора A_{кал} проти біланка реактиву.

РОЗРАХУНОК:

1. Загальний або прямий білірубін (мг/дл) = $\frac{A_{зр}}{A_{кал}} \times C_{кал}$ C_{кал} = значення в калібраторі

2. Використання коефіцієнта (f):
Прямий білірубін (мг/дл) = A_{зр} × f f = 16

ПАРАМЕТРИ ВИМІРЮВАННЯ ФОТОМЕТРАМИ

Режим	End point	Нижня норма (мг/дл)	0
Довжина хвилі 1 (нм)	546	Верхня норма (мг/дл)	0,2
Довжина хвилі 2 (нм)	670	Нижня межа кількісного визначення (мг/дл)	0,04
Об'єм зразка (мкл)	25/50	Лінійність (мг/дл)	20,5
Об'єм робочого розчину (мкл)	500/1000	Фактор	16
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 ЗНАЧЕННЯ¹²

У сироватці:

Дорослі та діти: 0–0.2 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.

Нижня межа визначення: 0,04 мг/дл

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

Лінійність: 20,5 мг/дл

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

Точність:

Точність визначали за допомогою контрольних матеріалів згідно з внутрішнім протоколом з повторюваності (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	0,59	0,005	0,80
Зразок 2	1,56	0,013	0,82

Проміжна точність	Діаметр (мг/дл)	SD (мг/дл)	CV (%)
Зразок 1	0,55	0,012	2,27
Зразок 2	1,62	0,033	2,01

Правильність

Використовувалися два різні перевірені контрольні матеріали. Визначене відхилення становить 6,1% для значення 0,35 мг/дл і 7,9% для значення 0,99 мг/дл.

Порівняння

Значення загального білірубину, визначені на автоматизованій системі XL-640 (y), порівнювали з комерційно доступним аналізом (x) на 120 зразках:

Linear regression:
y = 0,922x + 0,154 мг/дл r = 0,992

Passing-Bablok¹³:
y = 0,993x + 0,134 мг/дл r = 0,882

ПЕРЕШКОДИ

Критерій: відношення в межах ±10 % початкового значення концентрації прямого білірубину в зразку без заважаючих речовин. Не заважають такі аналіти: гемоглобін до 3 г/л, тригліцериди до 850 мг/дл.

Обмеження:

- Погіршення якості реагентів (наприклад, перевищення температури зберігання) може призвести до неправильних результатів. Мінімально допустиме поглинання біланка при 546 нм відносно дистильованої води становить 0,15.

- Високі концентрації гемоглобіну та тригліцеридів у зразку можуть заважати визначенню прямого білірубину. Дивіться розділ про втручання.

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

UFI: U61F-WEUA-9HT-R-X1MU



Небезпечно

Позначки небезпеки:

H314 Спричиняє тяжкі опіки шкіри та пошкодження очей.

Заходи безпеки і перша допомога:

P260 Не вдихати пари.

P280 Носити захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

P301 + P330 + P331 ЯКЩО ПРОКОВТНУЛИ: прополоскати рот. НЕ викликати блювоту.

P303 + P361 + P353 ЯКЩО НА ШКІРІ: (або волосі): негайно зніміть весь забруднений одяг. Промийте шкіру водою або під душем.

P305 + P351 + P338 У РАЗІ КОНТАКТУ З ОЧИМА: Протягом декількох хвилин ретельно промити водою. Якщо є контактні лінзи, зняти у разі можливості. Продовжувати промивати.

Додаткова інформація

EUN208 Містить 4-амінобензенсульфонову кислоту. Може викликати алергічну реакцію.

R2

Засіб не класифікується як небезпечний.

ПОВЕДІННЯ З ВІДХОДАМИ

Утилізація відходів повинна здійснюватися відповідно до місцевих правил.

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



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






N/54/23/INT

Дата проведення контролю: 21. 2. 2023

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / ЛІТЕРАТУРА

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. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2: Jan 2002.
8. Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders: 729-761, 1987.
9. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft: 192-202, 1998.
10. 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.
11. Dumas BT, Perry BW, Jendrzyszczak B, et al. Pitfalls in the American Monitor Kit Methods for Determination of Total and Direct Bilirubin. Clin Chem 28 (11), 2305-2308, 1982.
12. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E.; 5th edition, WB Saunders Comp., 2012.
13. 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 / ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ / POUŽITÉ SYMBOLY / ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ

REF	Catalogue Number Каталожный номер Katalogové číslo Каталожний номер	LOT	Lot Number Номер партии Číslo šarže Номер партії		Expiry Date Срок годности Datum expirace Термін придатності		See Instructions for Use Перед использованием внимательно изучайте инструкцию Čtěte návod k použití Перед використанням уважно вивчіть Інструкцію
IVD	<i>In vitro</i> diagnostic medical device Для <i>in vitro</i> диагностики Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> діагностика		Manufacturer Производитель Výrobce Виробник		Storage Temperature Температура хранения Teplota skladování Температура зберігання	CONT	Content Содержание Obsah Вміст
							Національний знак відповідності для України