

BILIRUBIN TOTAL & DIRECT

| Cat. No. | Pack Name | Packaging (Content) |
|----------|-------------|---|
| BLT00011 | BIL T&D 200 | R1: 2 × 40 mL (BIT), R2: 2 × 40 mL (BID), R3: 1 × 40 mL, instruction for use |



INTENDED USE

The kit is intended for *in vitro* photometric quantitative determination of bilirubin total and 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. 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 uridyl 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.

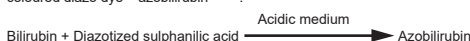
Total bilirubin is the sum of the unconjugated and conjugated fractions. Total bilirubin is elevated in hepatitis, cirrhosis, hemolytic disorders, several inherited enzyme deficiencies, and conditions causing hepatic obstruction.

TOTAL BILIRUBIN = INDIRECT BILIRUBIN + DIRECT BILIRUBIN

PRINCIPLE

Total Bilirubin: 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 hydrolysed in presence of Cetrimide.

Direct Bilirubin: 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 total or direct bilirubin in the sample.

REAGENT DESCRIPTION AND COMPOSITION

| R1 | | R2 | |
|------------------|-------------|------------------|-------------|
| Sulphanilic acid | 28.9 mmol/L | Sulphanilic acid | 28.9 mmol/L |
| HCl | 58.8 mmol/L | HCl | 23.0 mmol/L |
| Cetrimide | 68.6 mmol/L | | |
| R3 | | | |
| Sodium nitrite | 2.90 mmol/L | | |

COMPOSITION OF REACTION MIXTURE

| Bilirubin Total | | Bilirubin Direct | |
|------------------|-------------|------------------|-------------|
| Sulphanilic acid | 22.0 mmol/L | Sulphanilic acid | 22.0 mmol/L |
| HCl | 44.8 mmol/L | HCl | 17.5 mmol/L |
| Cetrimide | 52.2 mmol/L | Sodium nitrite | 0.55 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 (BIT) or reagent R2 (BID) with 1 portion of reagent R3.

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} : | | Bilirubin Direct: | |
|--|---|--|--|
| Bilirubin Total: | 1 day at 15–25 °C 7 days at 4–8 °C 6 months at -20 °C | 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 reference material NIST SRM 916 (Total Bilirubin) or Doumas method¹¹ (Direct Bilirubin).

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

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

$$2. \text{ Using factor (f):} \quad \text{Direct or Total Bilirubin (mg/dL)} = A_{\text{sam}} \times f \quad \begin{matrix} \text{Total Bilirubin: } f = 24 \\ \text{Direct Bilirubin: } f = 16 \end{matrix}$$

ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

| Parameter | Total Bilirubin | Direct Bilirubin |
|-----------------------------|-----------------|------------------|
| Mode | End point | End point |
| Wavelength 1 (nm) | 546 | 546 |
| Wavelength 2 (nm) | 670 | 670 |
| Sample Volume (μL) | 25/50 | 25/50 |
| Working Reagent Volume (μL) | 500/1000 | 500/1000 |
| Incubation time (min.) | 5 | 5 |
| Reaction temperature (°C) | 37 | 37 |
| Reaction direction | Increasing | Increasing |
| Normal Low (mg/dL) | 0 | 0 |

| | | |
|-------------------------|---------|---------|
| Normal High (mg/dL) | 2 | 0.2 |
| Linearity Low (mg/dL) | 0.02 | 0.04 |
| Linearity High (mg/dL) | 30 | 20.5 |
| Factor | 24 | 16 |
| Blank with | Reagent | Reagent |
| Absorbance limit (max.) | 0.15 | 0.15 |
| Units | mg/dL | mg/dL |

UNIT CONVERSION

mg/dL × 17.1 = μmol/L

EXPECTED VALUES¹²

In serum:

| Total Bilirubin: | 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 |

Direct Bilirubin:

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:

Bilirubin Total: 0.02 mg/dL
Bilirubin Direct: 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:

Bilirubin Total: 30 mg/dL
Bilirubin Direct: 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:

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

| Bilirubin Direct / Repeatability | Mean (mg/dL) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|----------------------------------|--------------|------------|--------|
| Sample 1 | 0.59 | 0.005 | 0.80 |
| Sample 2 | 1.56 | 0.013 | 0.82 |

| Bilirubin Total 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 |

| Bilirubin Direct 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

Bilirubin Total: 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.

Bilirubin Direct: 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 TOTAL (y) and a commercially available test (x) using 150 samples gave following results:

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

Passing-Bablok¹³: $y = 0.920x + 0.046 \text{ mg/dL}$ $r = 0.916$

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

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

Passing-Bablok¹³: $y = 0.933x + 0.134 \text{ mg/dL}$ $r = 0.882$

Interferences

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

Following substances do not interfere:

Total Bilirubin: haemoglobin up to 12.5 g/L, triglycerides up to 850 mg/dL

Direct Bilirubin: 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: 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

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

EUH208 Contains sulphanilic acid. May produce an allergic reaction.

R3

Reagent is not classified as dangerous.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ

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

N/59/23/J/INT

Date of revision: 21. 2. 2023

ЭРБА Билирубин (Общий & Прямой)

| Кат.№ | Фасовка |
|----------|---|
| BLT00011 | R1: 2 × 40 мл ОБ., R2: 21 × 40 мл ПР. R3: 1 × 40 мл см. инструкция |



Применение

Набор предназначен для прямого фотометрического количественного определения *in vitro* билирубина общего и прямого в сыворотке и плазме на различных автоматических системах. В сочетании с другими параметрами предназначен для скрининга, мониторинга и диагностики заболеваний печени. 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 ммоль (292 мг) билирубина, образующегося ежедневно. Другими источниками билирубина является распад миелинобана 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 непрямой или неконъюгированным билирубином. В печени билирубин конъюгируется с глюкуроновой кислотой (моно- и диглюкуронидами) под действием фермента ур идилгилфосфатглюкуронилтрансферазы с образованием конъюгированного билирубина. Конъюгированный билирубин или прямой билирубин выводится через билиарную систему в кишечник. Там он метаболизируется бактериями в стеркобилиноген. Экскреция почти полная, при этом уровень в сыворотке не высокий (незначительный). Общий билирубин представляет собой сумму неконъюгированной и конъюгированной фракций. Общий билирубин повышен при гепатите, циррозе, гемолитических нарушениях, при некоторых наследственных дефицитах ферментов и состояниях, вызывающих обструкцию печени. ОБЩИЙ БИЛИРУБИН = НЕПРЯМОЙ БИЛИРУБИН + ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН

Принцип

Билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой в сильнокислой среде с образованием интенсивно окрашенного диазокрасителя – азобилирубина.



Описание и состав реагентов

| Реагент 1 | Реагент 2 | |
|-----------------------|-----------------------|--------------|
| Сульфаниловая кислота | Сульфаниловая кислота | 28,9 ммоль/л |
| HCl | HCl | 58,8 ммоль/л |
| Цетримид | | 23,0 ммоль/л |
| Реагент 3 | | |
| Нитрит натрия | | 2,90 ммоль/л |

Состав реакционной смеси

| Билирубин Общий | Билирубин Прямой | |
|-----------------------|-----------------------|--------------|
| Сульфаниловая кислота | Сульфаниловая кислота | 22,0 ммоль/л |
| HCl | HCl | 44,8 ммоль/л |
| Цетримид | | 17,5 ммоль/л |
| Нитрит натрия | Нитрит натрия | 52,2 ммоль/л |
| | | 0,55 ммоль/л |

Подготовка реагентов

Реагенты жидкие, готовые к использованию. Приготовить рабочий реагент, смешав 4 части реактива Р1 или реактива Р2 с 1 частью реактива Р3.

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.

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 стабильен 7 суток, при температуре 2–8 °С, 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 исследования.

- 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 интерференции» для получения подробной информации о возможных интерференциях образцов.

Стабильность в сыворотке/плазме^{4,5}

| Билирубин общий: | 1 день при 15–25 °С | Билирубин прямой: | 2 дня при 15–25 °С |
|------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| | 7 дней при 4–8 °С | | 7 дней при 4–8 °С |
| | 6 месяцев при -20 °С | | 6 месяцев при -20 °С |

Защищайте 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.

Рекомендации

- 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.

Проектируемость

ЭРБА XL Мультикалибратор и контроли ЭРБА НОРМА и ЭРБА ПАТОЛОГИЯ стандартизированы, в сравнении методом Douma (Douma).

Проведение анализа

Длина волны: 546 / 670 нм
Оптический путь: 1 см
Температура: 37 °С
Измерение: против реагента сравнения (бланк).

| Пилетирование | 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 546/670 нм против бланка по реагенту.

Расчет

$$1. \text{ Билирубин прямой или общий (мг/дл)} = \frac{\Delta A_{\text{пр}}}{\Delta A_{\text{ан}}} \times \text{конц. Кал. (мг/дл)}$$

$$2. \text{ Расчет по фактору: } \begin{aligned} \text{Билирубин прямой (мг/дл)} &= \Delta A \times 24 \text{ (Фактор)} \\ \text{Билирубин общий (мг/дл)} &= \Delta A \times 16 \text{ (Фактор)} \end{aligned}$$

Параметры для работы на анализаторе

| Параметры | Билирубин общий | Билирубин прямой |
|---------------------------------------|-----------------|------------------|
| Метод | Конечная точка | Конечная точка |
| Длина волны1 (нм) | 546 | 546 |
| Длина волны 2 (нм) | 670 | 670 |
| Объем образца (мкл) | 25/50 | 25/50 |
| Объем реагент (мкл) | 500/1000 | 500/1000 |
| Время инкубации (мин) | 5 | 5 |
| Температура инкубации (°С) | 37 | 37 |
| Направление реакции | Увеличение | Увеличение |
| Нижний предел нормы(мг/дл) | 0 | 0 |
| Верхний предел нормы (мг/дл) | 2 | 2 |
| Нижний предел линейности(мг/дл) | 0,02 | 0,04 |
| Верхний предел линейности (мг/дл) | 30 | 20,5 |
| Фактор | 24 | 16 |
| Бланк по | Реагент | Реагент |
| Начальное поглощение реагента (Макс.) | 0,15 | 0,15 |
| Единицы | Мг/дл | Мг/дл |

Коэффициент пересчета

(мг/дл) × 17,1 = ммоль/л

Нормальные величины^{1,2}

В сыворотке:

Общий билирубин:
Взрослые: 0–2,0 мг/дл (0–33,9 ммоль/л)
Пуповинная кровь <2 мг/дл (33,9 ммоль/л)

Новорожденные недоношенные:

0–1 день 1,0–8,0 мг/дл (16,95–135,6 ммоль/л)
1–2 дня 6,0–12,0 мг/дл (101,7–203,4 ммоль/л)
3–5 дней 10,0–14,0 мг/дл (169,5–237,3 ммоль/л)

Новорожденные, родившийся в срок:

0–1 день 2,0–6,0 мг/дл (33,9–101,7 ммоль/л)
1–2 дня 6,0–10,0 мг/дл (101,7–169,5 ммоль/л)
3–5 дней 4,0–8,0 мг/дл (67,8–135,6 ммоль/л)

Прямой билирубин:

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

Приведенные величины следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

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:

Билирубин общий: 0,02 мг/дл

Билирубин прямой: 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:

Билирубин общий: 30 мг/дл

Билирубин прямой: 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.

| Билирубин общий | Среднеарифмическое значение (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|-----------------|-------------------------------------|------------|--------|
| Образец 1 | 1,56 | 0,007 | 0,44 |
| Образец 2 | 5,25 | 0,028 | 0,53 |

| Билирубин общий | Среднеарифмическое значение (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|-----------------|-------------------------------------|------------|--------|
| Образец 1 | 1,37 | 0,027 | 1,96 |
| Образец 2 | 4,76 | 0,094 | 1,98 |

| Билирубин прямой | Среднеарифмическое значение (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|------------------|-------------------------------------|------------|--------|
| Образец 1 | 0,59 | 0,005 | 0,80 |
| Образец 2 | 1,56 | 0,013 | 0,82 |

| Билирубин прямой | Среднеарифмическое значение (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|------------------|-------------------------------------|------------|--------|
| Образец 1 | 0,55 | 0,012 | 2,27 |
| Образец 2 | 1,62 | 0,033 | 2,01 |

Точность

Билирубин общий: использовали два разных проверенных контрольных материала. Определенная погрешность составляет -0,8 % при целевом значении 1,68 мг/дл и 6,7 % при целевом значении 4,55 мг/дл.

Билирубин прямой: 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 150 образцов было проведено на анализаторе ERBA XL-640 с использованием набора Билирубин общий (y) и имеющихся в продаже коммерческих реагентов доступной методикой (x) для исследования Билирубина общего, дало следующие результаты.

Линейная регрессия: $y = 1,14x - 0,056$ мг/дл $r = 0,998$

Линейная регрессия (по методу Пассинга и Баблока)³: $y = 0,920x + 0,046$ мг/дл $r = 0,916$

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

Линейная регрессия: $y = 0,922x + 0,154$ мг/дл $r = 0,992$

Линейная регрессия (по методу Пассинга и Баблока)³: $y = 0,933x + 0,134$ мг/дл $r = 0,882$

Влияющие вещества

Критерий: Восстановление в пределах ±10 % от исходного значения концентрации общего билирубина или прямого билирубина в образце без влияния вещества.

Следующие вещества не влияют на результаты.

Общий билирубин: гемоглобин до 12 г/л, триглицериды до 850 мг/дл

Билирубин прямой: гемоглобин до 3 г/л, триглицериды до 850 мг/дл.

Ограничения:

- Испорченные реагенты (например, превышение температуры хранения) могут давать неверные результаты.

Максимальная допустимая абсорбция бланка реагента, измеренная при 546 нм относительно дистиллированной воды, составляет 0,15.

- Высокая концентрация гемоглобина и триглицеридов в образце может мешать определению общего билирубин. См. Влияющие вещества

Предупреждение и меры предосторожности

Для *in vitro* диагностики.

Исследование должно проводиться уполномоченным и профессионально подготовленным лицом. 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

RF1: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K

UFI: U61F-WELU-9H7R-X1MU



Опасно

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

Меры предосторожности:

P280 Не дышать парами. 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.

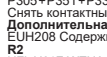
P305 + P351 + P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут.

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

UFI: U61F-WELU-9H7R-X1MU



Опасно

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

Меры предосторожности:

P280 Не дышать парами. 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.

R3

Реагент не классифицируется как опасный.

Утилизация отходов

Согласно с требованиями местного законодательства.

| Артикул | Наименование как в РУ | Номер РУ | Дата выдачи РУ |
|----------|---------------------------------|----------------|----------------|
| BLT00011 | ЭРБА Билирубин (Общий & Прямой) | ФСЗ 2011/09958 | от 14.05.2019 |



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/d, 621 00 Brno, CZ

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

N/59/23/JINT

Дата проведения контроля: 21. 2. 2023

BILIRUBIN TOTAL & DIRECT

| Kat. č. | Název | Balení |
|----------|-------------|---|
| BLT00011 | BIL T&D 200 | R1: 2 × 40 ml (BIT), R2: 2 × 40 ml (BID), R3: 1 × 40 ml, návod k použití |



ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro *in vitro* stanovení celkového a 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. 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 dalšími zdroji 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 unidýfylsálglukuronyltransferázou 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 sterkobilinogen. 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

Celkový bilirubin: bilirubin reaguje v silné kyselé prostředí s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku intenzivně zbarveného azobilirubinu – azobilirubinu. Bilirubin glukuronát je rozpustný ve vodě a reaguje přímo. Bilirubin navázaný na albumin musí být předem hydrolyzován v přítomnosti Cetrimidu.

Přímý bilirubin: bilirubin reaguje v silné kyselé prostředí s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku intenzivně zbarveného azobilirubinu – azobilirubinu^{1,2,3,4,5}.



Absorbance azobilirubinu měřená při 546 nm je úměrná koncentraci celkového nebo přímého bilirubinu ve vzorku.

SLOŽENÍ ČINIDEL

| R1 | | R2 | |
|----------------------|-------------|----------------------|-------------|
| Kyselina sulfanilová | 28,9 mmol/l | Kyselina sulfanilová | 28,9 mmol/l |
| HCl | 58,8 mmol/l | HCl | 23,0 mmol/l |
| Cetrimid | 68,6 mmol/l | | |
| R3 | | | |
| Dusitan sodný | 2,90 mmol/l | | |

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

| Celkový bilirubin: | | Přímý bilirubin: | |
|----------------------|-------------|----------------------|-------------|
| Kyselina sulfanilová | 22,0 mmol/l | Kyselina sulfanilová | 22,0 mmol/l |
| HCl | 44,8 mmol/l | HCl | 17,5 mmol/l |
| Cetrimid | 52,2 mmol/l | Dusitan sodný | 0,55 mmol/l |
| Dusitan sodný | 0,55 mmol/l | | |

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravena k použití. Pracovní roztok se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 (BIT) nebo R2 (BID) s jedním dílem činidla R3.

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 (systémů odběru vzorků) dodržujte pokyny jejich výrobce. Před provedením testu odešlete sraženiny ve vzorcích centrifugací. Podrobnosti o možných omezeních naleznete v sekci Interference.

Stabilita v séru / plazmě^{6,7}:

| Celkový bilirubin: | 1 den při 15–25 °C 7 dní při 4–8 °C 6 měsíců při -20 °C | Přímý bilirubin: | 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.

- 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.

NAVAZNOST

Následně, kalibrátor XL MULTICAL a kontroly ERBA NORM a PATH byly standardizovány vůči referenčnímu materiálu NIST SRM 916 (celkový bilirubin) nebo Doumasové metodě^{8†} (přímý bilirubin).

POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka: 546 / 670 nm
Kýveta: 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. 37 °C. Měří se absorbance vzorku A_{sz} a kalibrátoru A_{kal} vůči reagenčnímu blanku.

VÝPOČET

- Celkový nebo přímý bilirubin (μmol/l) = $\frac{A_{sz}}{A_{kal}} \times C_{kal}$ C_{kal} = hodnota v kalibrátoru
- Použití faktoru (f)
Celkový nebo přímý bilirubin (μmol/l) = A_{sz} × f
Celkový bilirubin: f = 410
Přímý bilirubin: f = 274

PARAMETRY MĚŘENÍ PRO FOTOMETRY

| Parametr | Celkový bilirubin | Přímý bilirubin |
|------------------------------------|-------------------|-----------------|
| Režim | End point | End point |
| Vlnová délka 1 (nm) | 546 | 546 |
| Vlnová délka 2 (nm) | 670 | 670 |
| Objem vzorku (μL) | 25/50 | 25/50 |
| Objem pracovního roztoku (μl) | 500/1000 | 500/1000 |
| Doba inkubace (min.) | 5 | 5 |
| Reakční teplota (°C) | 37 | 37 |
| Reakční směr | Vzrůstající | Vzrůstající |
| Normální dolní hodnota (μmol/l) | 0 | 0 |
| Normální horní hodnota (μmol/l) | 34 | 3,4 |
| Dolní mez stanovitelnosti (μmol/l) | 0,36 | 0,71 |
| Linearity (μmol/l) | 513 | 351 |
| Faktor | 410 | 274 |
| Blank | Činidlo | Činidlo |
| Limit absorbance (max.) | 0,15 | 0,15 |
| Jednotky | μmol/l | μmol/l |

PŘEPOČET JEDNOTEK

mg/dl × 17,1 = μmol/l

REFERENČNÍ HDNOTY¹²

| Sérum: | | V terminu |
|--------------------|------------|----------------|
| Celkový bilirubin: | Nedonošení | |
| 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 |

Přímý bilirubin:

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:

Celkový bilirubin: 0,36 μmol/l
Přímý bilirubin: 0,71 μmol/l
Dolní mez stanovitelnosti označuje nejnižší měřitelnou hodnotu analytu. Je vypočítána jako stanovená aktivita zředěného vzorku s CV <20 % (n = 30)

Linearity:

Celkový bilirubin: 513 μmol/l
Přímý bilirubin: 351 μmol/l
Linearity 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 mezi-laboratorní přesností (2 alikvoty v jednom měření, 2 měření denně, 20 dní). Byly získány následující výsledky:

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

| Celkový bilirubin / Mezi-laboratorní přesnost | Průměr (μmol/l) | SD (μmol/l) | CV (%) |
|---|-----------------|-------------|--------|
| Vzorek 1 | 23,4 | 0,46 | 1,96 |
| Vzorek 2 | 81,4 | 1,61 | 1,98 |

| Přímý bilirubin / Mezi-laboratorní přesnost | Průměr (μmol/l) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|---|-----------------|------------|--------|
| Vzorek 1 | 9,7 | 0,21 | 2,27 |
| Vzorek 2 | 27,7 | 0,56 | 2,01 |

Správnost

Celkový bilirubin: 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.
Přímý bilirubin: byly použity dva různé validované kontrolní materiály. Stanovený bias je 6,1 % pro hodnotu 5,99 μmol/l a 7,9 % pro hodnotu 16,9 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-Bablok¹³: y = 0,920x + 0,78 μmol/l r = 0,916

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:

Celkový bilirubin: hemoglobin do 12,5 g/l, triglyceridy do 850 mg/dl.

Přímý bilirubin: 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

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-WF2R-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 POZITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.

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

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

Supplemental information
EUH 208 Obsahuje sulfanilovou kyselinu. Může vyvolat alergickou reakci.

R2
UFI: U61F-WFUA-9H7R-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 POZITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.

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

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

Doplňující informace
EUH208 Obsahuje sulfanilovou kyselinu. Může vyvolat alergickou reakci.

R3

Činidlo není klasifikováno jako nebezpečné.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Likvidace odpadních materiálů musí probíhat v souladu s místními předpisy.



БІЛІРУБІН ЗАГ&ПР 200

| Кат. номер | Назва | Фасування |
|------------|-------------|--|
| BLT00011 | BIL T&D 200 | R1: 2 × 40 мл (BIT), R2: 2 × 40 мл (BID), R3: 1 × 40 мл, інструкція із застосування |



ЗАСТОСУВАННЯ

Діагностичний набір для *in vitro* визначення загального та прямого 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

Напівжиттєвого 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 м'ясопродуктів, а також катаболізм неферил еритроцитів у кістковому мозку.

Утворений білірубін транспортується до печінки у зв'язаному вигляді з альбуміном. Ця фракція білірубіну називається непрямым або невязаним білірубіном. У печінці білірубін зв'язується з глюкуроновою кислотою (моно- і диглюкуронидами) за допомогою ферменту уридилдифосфатглюкуронілтрансферази 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 залишається незначним. Загальний білірубін - це сума некон'югованої та кон'югованої фракцій. Загальний білірубін підвищується при гепатиті, цирозі печінки, гемолітичних захворюваннях, рідкі спадкових ферментних недостаткостях і станах, що викликають обструкцію печінки.

ЗАГАЛЬНИЙ БІЛІРУБІН = НЕПРЯМИЙ БІЛІРУБІН + ПРЯМИЙ БІЛІРУБІН

ПРИНЦИП МЕТОДА

Загальний білірубін: білірубін реагує в сильно кислому середовищі з діазотованою сульфаніловою кислотою з утворенням інтенсивно відцпеленого азобарвника - азобілірубіну. Білірубін глюкуронозат розчиняється у воді та вступає в безпосередню реакцію. Білірубін, зв'язаний з альбуміном, спочатку повинен бути гідролізований у присутності цетриміду.

Прямий білірубін: білірубін реагує в сильно кислому середовищі з діазотованою сульфаніловою кислотою з утворенням інтенсивно відцпеленого азобарвника - азобілірубіну^{123,4,5}.

Білірубін + Діазотована сульфанілова кислота $\xrightarrow{\text{Кисле середовище}}$ Азобілірубін
Поглинання азобілірубіну, вимірює при 546 нм, пропорційне концентрації загального або прямого білірубіну в зразку.

СКЛАД РЕАГЕНТІВ

| | | | |
|---|--|--|------------------------------|
| R1 Сульфанілова кислота HCl Цетримід R3 Нітрит натрію | 28,9 ммоль/л 58,8 ммоль/л 68,6 ммоль/л 2,90 ммоль/л | R2 Сульфанілова кислот HCl Нітрит натрію | 28,9 ммоль/л 23,0 ммоль/л |
|---|--|--|------------------------------|

СКЛАД РЕАКЦІЙНОЇ СУМІШІ

| | | | |
|--|--|---|--|
| Загальний білірубін Сульфанілова кислота HCl Цетримід Нітрит натрію | 22,0 ммоль/л 44,8 ммоль/л 52,2 ммоль/л 0,55 ммоль/л | Прямий білірубін Сульфанілова кислота HCl Нітрит натрію | 22,0 ммоль/л 17,5 ммоль/л 0,55 ммоль/л |
|--|--|---|--|

ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Реактиви рідкі, готові до використання. Робочий розчин готують змішуванням 4 частин реактиву R1 (BIT) або R2 (BID) з однією частиною реагенту R3.

МАТЕРІАЛ НЕОБХІДНИЙ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЄТЬСЯ З ПРИСТРОЄМ

Будь-який прилад із контролем температури 37 ±0,5 °C, здатний зчитувати поглинання при 546 нм, може використовуватися як загальне лабораторне обладнання.

СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Невідкриті реагенти, 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. Дотримуйтесь інструкцій виробника під час роботи зі зразками в певних пробірках (системах відбору проб). Перед виконанням аналізу відокремте осад у зразках центрифугуванням. Докладні відомості про можливі обмеження див. у розділі Перешкоди.

Стабільність у сироватці/плазмі⁶⁻⁷:

| | | | |
|----------------------|--|-------------------|---|
| Загальний білірубін: | 1 день при 15-25 °C 7 днів при 4-8 °C 6 місяців при -20 °C | Прямий білірубін: | 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. Двохканове 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 керівні ймовірні 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 (загальний білірубін) або методом Doumas11 (прямий білірубін).

ПРОЦЕДУРА ВИМІРЮВАННЯ

Довжина хвилі: 546 / 670 нм
Кювета: 1 см

| | Біланк 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 інкубувати 5 хв. при 37 °C. Вимірюють абсорбцію зразка A_{зр} і калібратора A_{кал} проти біланка реагенту.

РОЗРАХУНОК:

$$1. \text{ Загальний або прямий білірубін (ммоль/л)} = \frac{A_{\text{зр}}}{A_{\text{кал}}} \times C_{\text{кал}} \quad C_{\text{кал}} = \text{значення в калібраторі}$$

$$2. \text{ Використання коефіцієнта (f):} \quad \text{Загальний білірубін (ммоль/л)} = A_{\text{зр}} \times f \quad \text{Загальний білірубін: } f = 410$$
$$\text{Прямий білірубін: } f = 274$$

ПАРАМЕТРИ ВИМІРЮВАННЯ ФОТОМЕТРАМИ

| Параметр | Загальний білірубін | Прямий білірубін |
|---|---------------------|------------------|
| Режим | End point | End point |
| Довжина хвилі 1 (нм) | 546 | 546 |
| Довжина хвилі 2 (нм) | 670 | 670 |
| Об'єм зразка (мкл) | 25/50 | 25/50 |
| Об'єм робочого розчину (мкл) | 500/1000 | 500/1000 |
| Час інкубації (хв.) | 5 | 5 |
| Температура реакції (°C) | 37 | 37 |
| Напрямок реакції | Висхідний | Висхідний |
| Нижня норма (мг/дл) | 0 | 0 |
| Верхня норма (мг/дл) | 2 | 0,2 |
| Нижня межа кількісного визначення (мг/дл) | 0,02 | 0,04 |
| Лінійність (мг/дл) | 30 | 20,5 |
| Фактор | 24 | 16 |
| Біланк | Реагент | Реагент |
| Межа поглинання (макс.) | 0,15 | 0,15 |
| Одиниці | мг/дл | мг/дл |

ПЕРЕВЕДЕННЯ ОДИНИЦЬ

мг/дл × 17,1 = ммоль/л

РЕФЕРЕНТНІ ЗНАЧЕННЯ¹²

У сироватці:

| Загальний білірубін: | Передчасно | Вчасно |
|----------------------|------------|----------------|
| Пуповинна кров | <2,0 | <2,0 мг/дл |
| 0-1 д | 1,8-8,0 | 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 мг/дл |

Прямий білірубін:

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:

Загальний білірубін: 0,02 мг/дл

Прямий білірубін: 0,04 мг/дл

Визначення нижньої межі кількісного визначення вказує на найнижчу вимірювану величину аналізу. Розраховується як визначена активність розведеного зразка з CV <20 % (n = 30)

Лінійність:

Загальний білірубін: 30 мг/дл

Прямий білірубін: 20,5 мг/дл

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

Точність:

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

| Загальний білірубін / Повторюваність | Діаметр (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) | Прямий білірубін / Повторюваність | Діаметр (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|--------------------------------------|-----------------|------------|--------|-----------------------------------|-----------------|------------|--------|
| Зразок 1 | 1,56 | 0,007 | 0,44 | Зразок 1 | 0,59 | 0,005 | 0,80 |
| Зразок 2 | 5,25 | 0,028 | 0,53 | Зразок 2 | 1,56 | 0,013 | 0,82 |

| Загальний білірубін / Проміжна точність | Діаметр (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) | Прямий білірубін / Середня точність | Діаметр (мг/дл) | SD (мг/дл) | CV (%) |
|---|-----------------|------------|--------|-------------------------------------|-----------------|------------|--------|
| Зразок 1 | 1,37 | 0,027 | 1,96 | Зразок 1 | 0,55 | 0,012 | 2,27 |
| Зразок 2 | 4,76 | 0,094 | 1,98 | Зразок 2 | 1,62 | 0,033 | 2,01 |

Правильність

Загальний білірубін: 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.

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

Linear regression:
y = 1,014x - 0,056 мг/дл r = 0,998

Перехідний-Бабок¹³:
y = 0,920x + 0,046 мг/дл r = 0,916

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

Лінійна регресія:
y = 0,922x + 0,154 мг/дл r = 0,992

Перехідний-Бабок¹³:
y = 0,933x + 0,134 мг/дл r = 0,882

ПЕРЕШКОДИ

Критерій: відновлення в межах ±10 % початкового значення концентрації прямого білірубіну в зразку без заважаючих речовин. Наступні аналіти не заважають:

Білірубін загальний: гемоглобін до 12,5 г/л, тригліцериди до 850 мг/дл.

Білірубін прямий: гемоглобін до 3 г/л, тригліцериди до 850 мг/дл.

Обмеження

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

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

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ІНСТРУКЦІЇ ЩОДО БЕЗПЕЧНОГО ПОВЕДІННЯ

Призначений для діагностики *in vitro* уповноваженою та професійно кваліфікованою особою. Про будь-яку серйозну несприятливу подію, яка сталася у зв'язку з цим продуктом, слід повідомляти виробника та державний орган.

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

R1

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



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 волосся): негайно змити 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.

UF: U61F-WEUA-9H7R-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 волосся): негайно змити 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.

R3 Заб'є 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. ІОННА 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/59/23/J/INT

Дата проведення контролю: 21. 2. 2023

BILIRUBIN TOTAL & DIRECT

| Catalogo. No. | Nombre del paquete | Presentación (contenido) |
|---------------|--------------------|--|
| BLT00011 | BIL T&D 200 | R1: 2 × 40 mL (BIT), R2: 2 × 40 mL (BID), R3: 1 × 40 mL, instrucciones de uso |



USO PREVISTO

El kit está destinado a la determinación cuantitativa fotométrica in vitro de la bilirrubina total y directa en suero y plasma humanos en varios sistemas automáticos. En combinación con otros parámetros, está destinado a la detección, seguimiento y diagnóstico de enfermedades hepáticas. Solo para uso profesional en laboratorio clínico.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los glóbulos rojos al final de su vida circulante 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 denomina bilirrubina indirecta o no conjugada. En el hígado, la bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico (mono y diglucuronidos) mediante la enzima uridil difosfato glucuronil transferasa para formar bilirrubina conjugada. La bilirrubina conjugada o bilirrubina directa se excreta a través del sistema biliar hacia el intestino, donde las bacterias la metabolizan en un grupo de productos conocidos colectivamente como esterobilinógeno. La eliminación es casi completa y los niveles séricos normalmente son insignificantes.

La bilirrubina total es la suma de las fracciones conjugada y no conjugada. La bilirrubina total está elevada en la hepatitis, la cirrosis, los trastornos hemolíticos, varias deficiencias enzimáticas hereditarias y las afecciones que causan obstrucción hepática.

BILIRUBINA TOTAL = BILIRUBINA INDIRECTA + BILIRUBINA DIRECTA

PRINCIPIO

Bilirrubina total: la bilirrubina y el glucuronato de bilirrubina reaccionan con el ácido sulfanílico diazotizado en un medio fuertemente ácido y forman un colorante diazo de color intenso: la azobilirrubina. El glucuronato de bilirrubina es soluble en agua y reacciona directamente, la bilirrubina asociada a la albúmina debe hidrolizarse previamente en presencia de Cetrimida.

Bilirrubina directa: la bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotizado en un medio fuertemente ácido y forma un colorante diazo de color intenso: azobilirrubina^{1,2,3,4,5}.



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

DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

| R1 | | R2 | |
|--------------------|-------------|-------------------|-------------|
| Ácido sulfanílico | 28.9 mmol/L | Ácido sulfanílico | 28.9 mmol/L |
| HCl | 58.8 mmol/L | HCl | 23.0 mmol/L |
| Cetrimonio bromuro | 68.6 mmol/L | | |
| R3 | | | |
| Sodio nitrato | 2.90 mmol/L | | |

COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE REACCIÓN

| Bilirrubina total | | Bilirrubina Directa | |
|--------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Ácido sulfanílico | 22.0 mmol/L | Ácido sulfanílico | 22.0 mmol/L |
| HCl | 44.8 mmol/L | HCl | 17.5 mmol/L |
| Cetrimonio bromuro | 52.2 mmol/L | Sodio nitrato | 0.55 mmol/L |
| Sodio nitrato | 0.55 mmol/L | | |

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos son líquidos, listos para usar. Prepare el reactivo de trabajo mezclando 4 porciones de reactivo R1 (BIT) o reactivo R2 (BID) con 1 porción de reactivo R3.

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL DISPOSITIVO

Se puede utilizar 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 la etiqueta del kit cuando se almacenan a 2–8 °C. El reactivo de trabajo es estable durante 7 días a 2–8 °C, protegido de la contaminación y la luz. Se recomienda preparar una solución de trabajo nueva antes de realizar el ensayo.

MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE 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 los especímenes enumerados a continuación fueron probados y considerados aceptables.

Suero:
Plasma: plasma con heparina de litio y EDTA K₂.
Los tipos de muestras enumerados se analizarán con una selección de tubos de recogida de muestras que estaban disponibles comercialmente en el momento de la prueba, es decir, no se analizaron todos los tubos disponibles de todos los fabricantes. Los sistemas de recolección de muestras de varios fabricantes pueden contener diferentes materiales que podrían afectar los resultados de la prueba en algunos casos. Al procesar muestras en tubos primarios (sistemas de recolección de muestras), siga las instrucciones del fabricante del tubo. Centrifugar las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo.

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

| Estabilidad en suero / plasma ^{6,7} | | Bilirrubina Directa: | |
|--|---|--|--|
| Bilirrubina total: | 1 día 15–25 °C 7 días 4–8 °C 6 meses -20 °C | 2 días 15–25 °C 7 días 4–8 °C 6 meses -20 °C | |

Proteja la muestra de la luz. Deseche las muestras contaminadas.

CALIBRACIÓN

Calibración con calibrador XL MULTICAL 4x3, Cat. n.º XSYS0034 o XL MULTICAL 10x3, cat. Se recomienda el número XSYS0122.
Calibración de 2 puntos (blanco y calibrador): Se recomienda agua destilada como blanco. Frecuencia de calibración: se recomienda hacer una calibración
• después del cambio de lote de reactivo
• según lo requieran los procedimientos internos de control de calidad

CONTROL DE CALIDAD

Para control de calidad ERBA NORM 4x5, Cat. n.º BLT00080 o ERBA NORM 10x5, cat. n.º XSYS0123 y ERBA PATH 4x5, cat. n.º BLT00081 o ERBA PATH 10x5, cat. Se recomienda el No. XSYS0124.
Los intervalos y límites de control deben adaptarse de acuerdo con los requisitos de cada laboratorio individual. Los valores obtenidos deben estar dentro de los intervalos definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctivas a tomar si los valores caen fuera de los límites definidos.

TRAZABILIDAD

Este método, el calibrador XL MULTICAL y los controles ERBA NORM y ERBA PATH han sido estandarizados frente al material de referencia NIST SRM 916 (Total Bilirubin) o Doumas method⁸ (Direct Bilirubin).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Longitud de onda: 546 / 670 nm
Cubeta: 1 cm

| | Reagent blank | Estándar (Cal.) | Muestra |
|---------------------|---------------|-----------------|---------|
| Reactivo de trabajo | 1.00 mL | 1.00 mL | 1.00 mL |
| Sample | – | – | 0.05 mL |
| Estándar (Cal.) | – | 0.05 mL | – |
| Agua destilada | 0.05 mL | – | – |

Mezclar e incubar 5 min a 37 °C. Medir la absorbancia de la muestra A_{sam} y estándar A_{est} contra el blanco del reactivo.

CÁLCULO

$$1. \text{Bilirrubina Total y Directa (mg/dL)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}}}{\Delta A_{\text{est}}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{concentración del calibrador}$$

$$2. \text{usando el factor:} \quad \text{Bilirrubina Total y Directa} = \Delta A_{\text{sam}} \times f \quad \text{Bilirrubina Total: } f = 24 \quad \text{Bilirrubina directa: } f = 16$$

PARÁMETROS DE ENSAYO PARA FOTÓMETROS

| Parámetro | Bilirrubina Total | Bilirrubina directa |
|--------------------------------------|-------------------|---------------------|
| Modo | Punto final | Punto final |
| Longitud de onda (nm) 1 | 546 | 546 |
| Longitud de onda (nm) 2 | 670 | 670 |
| Volumen de muestra (µL) | 25/50 | 25/50 |
| Volumen del Reactivo de trabajo (µL) | 500/1000 | 500/1000 |
| Tiempo de incubación (min.) | 5 | 5 |
| Temperatura de incubación (°C) | 37 | 37 |
| Dirección de reacción | Creciente | Creciente |

| | | |
|--------------------------------|----------|----------|
| Normal bajo (mg/dL) | 0 | 0 |
| Normal alto (mg/dL) | 2 | 0.2 |
| Linealidad baja (mg/dL) | 0.02 | 0.04 |
| Linealidad de alta (mg/dL) | 30 | 20.5 |
| Factor | 24 | 16 |
| Blanco con | Reactivo | Reactivo |
| Límite de absorbancia (máximo) | 0.15 | 0.15 |
| Unidades | mg/dL | mg/dL |

CONVERSIÓN DE UNIDADES

mg/dL × 17.1 = µmol/L

VALORES ESPERADOS²

In serum:

| Bilirrubina total: | Prematura | A término |
|--------------------|-----------|----------------|
| Cordón | <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 |

Bilirrubina Directa:

Adultos y bebés: 0–0.2 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio verifique este rango o derive el intervalo de referencia para la población a la que sirve.

RENDIMIENTO ANALÍTICO

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

Límite de cuantificación:

| | |
|----------------------|------------|
| Bilirrubina total: | 0.02 mg/dL |
| Bilirrubina Directa: | 0.04 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:

| | |
|----------------------|------------|
| Bilirrubina total: | 30 mg/dL |
| Bilirrubina Directa: | 20.5 mg/dL |

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

Precisión:

La precisión se determinó utilizando controles en un protocolo interno con repetibilidad (n = 20) y precisión intermedia (2 alícuotas por corrida, 2 corridas por día, 20 días). Los siguientes resultados fueron obtenidos:

| Bilirrubina total / Repetibilidad | Media (mg/dL) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|-----------------------------------|---------------|------------|--------|
| Muestra 1 | 1.56 | 0.007 | 0.44 |
| Muestra 2 | 5.25 | 0.028 | 0.53 |

| Bilirrubina Directa / Repetibilidad | Media (mg/dL) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|-------------------------------------|---------------|------------|--------|
| Muestra 1 | 0.59 | 0.005 | 0.80 |
| Muestra 2 | 1.56 | 0.013 | 0.82 |

| Bilirrubina total Precisión intermedia | Media (mg/dL) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|--|---------------|------------|--------|
| Muestra 1 | 1.37 | 0.027 | 1.96 |
| Muestra 2 | 4.76 | 0.094 | 1.98 |

| Bilirrubina total Precisión intermedia | Media (mg/dL) | SD (mg/dL) | CV (%) |
|--|---------------|------------|--------|
| Muestra 1 | 0.55 | 0.012 | 2.27 |
| Muestra 2 | 1.62 | 0.033 | 2.01 |

Exactitud

Bilirrubina total: se utilizaron dos materiales de control diferentes validados. El sesgo determinado es -0,8 % en el valor objetivo de 1,68 mg/dL y 6,7 % en el valor objetivo de 4,55 mg/dL. Bilirrubina directa: se utilizaron dos materiales de control diferentes validados. El sesgo determinado es del 6,1 % en el valor objetivo de 0,35 mg/dL y del 7,9 % en el valor objetivo de 0,99 mg/dL.

Comparación

Una comparación entre el sistema automático XL-640 BILIRUBINA TOTAL (y) y una prueba disponible comercialmente (x) usando 150 muestras arrojó los siguientes resultados:

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

Pasando Bablok¹⁰: y = 0.920x + 0.046 mg/dL r = 0.916

Una comparación entre el sistema automático XL-640 BILIRUBINA DIRECTA (y) y una prueba disponible comercialmente (x) usando 120 muestras arrojó los siguientes resultados:

Regresión lineal: y = 0.922x + 0.154 mg/dL r = 0.992

Pasando Bablok¹⁰: y = 0.933x + 0.134 mg/dL r = 0.882

Interferencias

Criterio: Recuperación dentro del ±10 % del valor inicial de la concentración de bilirrubina total o directa en la muestra sin sustancias de interferencia. Las siguientes sustancias no interfieren: Bilirrubina total: hemoglobina hasta 12,5 g/L, triglicéridos hasta 850 mg/dL. Bilirrubina Directa: hemoglobina hasta 3 g/L, triglicéridos hasta 850 mg/dL.

Limitaciones:

- Los reactivos deteriorados (por ejemplo, superando la temperatura de almacenamiento) pueden dar resultados incorrectos. Máximo la absorbancia permisible del blanco de reactivo medida a 546 nm frente al agua destilada es 0,15.
- La alta concentración de hemoglobina y triglicéridos en la muestra puede interferir con la determinación de bilirrubina Ver párrafo Interferencias.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico in vitro. Para ser manejado por una persona titulada y educada profesionalmente. Cualequier incidente grave que se haya producido en relación con el producto se comunicará al fabricante y 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: 0V0F-WE2R-2H7R-9P9K



Peligro

Indicación de peligro: H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia:

P260 No respirar los vapores.
P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTION: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.
P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua o ducharse.
P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Información suplementaria

EUH208 Contiene Ácido sulfanílico. Puede provocar una reacción alérgica.

R2

UFI: U61F-WEUA-9H7R-X1MU



Peligro

Indicación de peligro: H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia:

P260 No respirar los vapores.
P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTION: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.
P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua o ducharse.
P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Información suplementaria

EUH208 Contiene Ácido sulfanílico. Puede provocar una reacción alérgica.

R3

El reactivo no está clasificado como peligroso.

MANEJO DE RESIDUOS

Consulte los requisitos legales locales.

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






N/59/23/J/INT

Fecha de revisión: 21. 2. 2023

REFERENCES / LITERATURA / ЛИТЕРАТУРА / 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. 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 / UTILIZADOS SÍMBOLOS

| | | | | | | | | | |
|------------|--|---|---|---|---|--|---|---|---|
| REF | Catalogue Number Каталожный номер Katalogové číslo Каталожний номер Número de Catálogo | LOT | 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 використання уважно вивчіть Інструкцію Véase instrucciones de uso | | |
| IVD | <i>In vitro</i> diagnostic medical device Для <i>in vitro</i> діагностики Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> диагностика Dispositivo Médico para Diagnóstico <i>in Vitro</i> Solamente |  | Manufacturer Производитель Výrobce Виробник Fabricante |  | Storage Temperature Температура хранения Teplota skladování Температура зберігання Rango de Temperatura | CONT | Content Содержание Obsah Вміст Contenido |  | Національний знак відповідності для України |