

BILIRUBIN DIRECT JENDRASSIK GROF

Cat. No.	Pack Name	Packing (Content)
BLT00014	BIL D JG 300	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 45 ml, R3: 1 x 3 ml



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of Bilirubin Direct in human serum and plasma.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is a breakdown product of haemoglobin. Bilirubin formed in the reticulo endothelial system is transported bound by albumin to the liver. This bilirubin is water insoluble and is known as indirect or unconjugated bilirubin. In the liver, bilirubin is conjugated to glucuronic acid to form direct bilirubin. Conjugated bilirubin is excreted via the biliary system into the intestine. Here it is metabolised by bacteria to urobilinogen and stercobilinogen.

TOTAL BILIRUBIN = INDIRECT BILIRUBIN + DIRECT BILIRUBIN

Total Bilirubin is elevated in obstructive conditions of the bile duct, hepatitis, cirrhosis, in haemolytic disorders and several inherited enzyme deficiencies.

Indirect Bilirubin is elevated by pre-hepatic causes such as haemolytic disorders or liver diseases resulting in impaired entry transport or conjugation within the liver.

Monitoring of indirect bilirubin in neonates is of special importance as it is the indirect (or free) bilirubin bound to albumin that is able to cross the blood brain barrier more easily increasing the danger of cerebral damage.

PRINCIPLE

Reagent kit for determination of direct bilirubin in human serum and plasma according to Jendrassik-Grof modif. method, convenient for use on automatic analysers.

Direct bilirubin in strongly acid medium reacts with diazotized sulfanilic acid forming red coloured azobilirubin, useful for photometric determination.

REAGENT COMPOSITION

R1
Hydrochloric acid 50.6 mmol/l

R2
Hydrochloric acid ≥ 170 mmol/l
Sulfanilic acid 29 mmol/l

R3
Sodium nitrite 72.5 mmol/l

REACTION MIXTURE

Hydrochloric acid ≥ 62.3 mmol/l
Sulfanilic acid 3.7 mmol/l
Sodium nitrite 0.36 mmol/l

REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid, ready to use.

Reagent 1 is liquid ready to use.

Preparation of working solution:

mix reagents R2 and R3 in ratio 26+1.

Stability: 1 week at 2–8°C in the dark
5 hours at 15–25°C in the dark

STABILITY AND STORAGE

If stored at 2–25°C, reagents are stable until expiry date, that is stated on the package.

After opening, all reagents are stable until expiry date at 2–25°C if stored at appropriate temperature conditions, closed carefully and without any contamination.

SPECIMEN COLLECTION & HANDLING

Use serum, plasma (heparin, EDTA). Protected from the light!

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Stability

2 days at 15–25°C

7 days at 2–8°C

3 months at -20°C

FREEZE ONLY ONCE!

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

Calibration with calibrator Lyonorm Calibrator.

QUALITY CONTROL

For quality control, it is recommended to use following materials:

Lyonorm HUM N

Lyonorm HUM P

UNIT CONVERSION

mg/dl x 17.1 = µmol/l

EXPECTED VALUES ⁴

Adults and infants : ≤ 3.4 µmol/l

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

PERFORMANCE DATA

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification: 1.46 µmol/l

Linearity: 180 µmol/l

Measuring range: 1.46 – 180 µmol/l

Intra-assay precision Within run (n=20)	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Sample 1	11.50	0.394	3.43
Sample 2	44.9	1.67	3.72

Inter-assay precision Run to run (n=20)	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Sample 1	11.56	0.378	3.28
Sample 2	42.5	1.40	3.30

COMPARISON

A comparison between BIL D JG 300 (y) and a commercially available test (x) using 40 samples

gave following results:

y = 0.997 x + 0.220 µmol/l

r = 0.999

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:

triglycerides up to 750 mg/dl, haemoglobin up to 10 g/l.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagents of the kit are not classified like dangerous.

Reagent 2:

EUH210 Safety data sheet available on request.

EUH208 Contains sulphanilic acid. May produce an allergic reaction.

FIRST AID

In case of an accidental ingestion, wash up the mouth and drink about 0.5 l of water. On eye contact rinse the eye quickly and thoroughly with the jet of tap of water. Contaminated skin should be washed with warm water and soap. In all serious cases of health damage consult a physician.

WASTE DISPOSAL

All tested samples should be treated as potentially infectious and with an eventual rest of reagents should be disposed in accordance with the internal regulations for dangerous waste, in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of dangerous materials.

Paper packing and others should be handed over for recycling or discarded as sorted waste (paper, glass, plastic).

PROCEDURE

Wavelength 546 (540–560) nm

Cuvette 1 cm

Temperature 37 °C

Serum/reaction mixture ratio 1/15

Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio.

	Sample Blank	Sample	Standard (calibrator) Blank	Standard (calibrator)
Reagent R1	1.2 ml	1.2 ml	1.2 ml	1.2 ml
Sample	0.1 ml	0.1 ml	-	-
Standard (calibrator)	-	-	0.1 ml	0.1 ml
Mix immediately and incubate for 5 minutes in the dark, then add				
Working solution	-	0.2 ml	-	0.2 ml
Reagent R2	0.2 ml	-	0.2 ml	-
Mix and after 5 minutes incubation in the dark read the absorbance of the sample blank A ₁ , the absorbance of the sample A ₂ , the absorbance of the standard blank A ₃ and the absorbance of the standard A ₄ against reagent blank. The coloration is stable 30 mins protected from the light.				

CALCULATION

$$\text{Bilirubin } (\mu\text{mol/l}) = \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)} \times C_{\text{st}}$$

C_{st} = standard (calibrator) concentration

NOTE

- It is recommended to use 0.9% saline for reagent blank for automatic procedure, in case of manual measurement can be used distilled water.
- The analysis are to be carried out in a dark place. In the light, the coloration of azobilirubin drops of about 10% during 15 minutes.
- In case of manual procedure, measure at 15–25°C.
- Without measurement of sample and standard (calibrator) blank, false higher concentration of bilirubin might be found, by about 2-14 µmol/l in dependence of the nature of the sera.
- Procedure in case of calibration with Bilirubin Standard or with using calibration curve obtained by BLT Bilirubin Total Liquid 350 S is described in Russian version of this instruction. In other languages it is available on request.

Applications for automatic analysers will be supplies on request.



Билирубин прямой LIQUID (C) - определение прямого билирубина

Кат. №	Фасовка
BLT00014	R1: 1 x 250 мл, R2: 1 x 45 мл, R3: 1 x 3 мл



Применение
Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики общего билирубина в сыворотке и плазме человека.

Клиническое значение
Билирубин – продукт распада гемоглобина. Билирубин плохо растворим в воде, поэтому в свободном виде не присутствует в плазме крови. Для транспортирования в крови от селезенки к печени он образует комплекс с альбумином и называется конъюгированный (непрямой) билирубин. В печени происходит конъюгация билирубина с глюкуроновой кислотой, образуется прямой (конъюгированный) билирубин, который дальше экскретируется в желчные протоки.
Общий Билирубин = Непрямой Билирубин + Прямой Билирубин
Общий Билирубин повышается при закупорке внутри и внепеченочных желчных протоков, повреждениях печеночных клеток, при физиологической желтухе у новорожденных из-за увеличенного послеродового разрушения эритроцитов и недоразвитой системой ферментов для метаболизма билирубина. Мониторинг непрямого билирубина очень важен в неонатологии, т.к. это может приводить к повреждениям мозга.
Прямой Билирубин повышается при закупорке внутри и внепеченочных желчных протоков, повреждениях печеночных клеток (особенно на поздних стадиях заболевания), холестазах.

Принцип реакции
Прямой билирубин реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой, с образованием азосоединения красного цвета. Интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации прямого билирубина и измеряется фотометрически.

Состав реагентов

R1 (Акселератор)

Соляная кислота 50,6 ммоль/л

R2

Соляная кислота ≥ 170 ммоль/л

Сульфаниловая кислота 29 ммоль/л

R3

Нитрит натрия 72,5 ммоль/л

Состав реакционной смеси

Соляная кислота ≥ 62,3 ммоль/л

Сульфаниловая кислота 3,7 ммоль/л

Нитрит натрия 0,36 ммоль/л

Подготовка реагентов

Реагенты жидкие, готовые к использованию.

Реагент 1 жидкий, готовый к использованию.

Подготовка рабочего реагента:

смешайте реагенты R2 и R3 в соотношении 26+1.

Стабильность: 1 неделя при 2–8°C в защищенном от света месте.

5 часов при 15–25°C в защищенном от света месте.

Стабильность и хранение рабочих реагентов

Если рабочие реагенты хранятся при 2–25°C, набор стабилен до окончания срока годности, указанного на упаковке.

После вскрытия, реагенты стабильны до указанного срока годности, если хранятся при 2–25°C, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.

Образцы

Негемоглинизированная сыворотка или гепаринизированная, ЭДТА плазма.

Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов).

Стабильность:

2 дня при 15–25°C

7 дней при 2–8°C

3 месяца при -20°C

Замораживать только один раз!

Загрязненные образцы не использовать.

Калибровка

Для калибровки рекомендуется использовать Лионорм Калибратор.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка:

Лионорм ГУМ Н и Лионорм ГУМ П.

Коэффициент пересчета

мг/дл x 17,1 = ммоль/л

Нормальные величины ⁴

Билирубин прямой (ммоль/л)

Взрослые и дети ≤ 3,4

Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные.

Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Значения величин

Эти значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах серии ERBA XL. Результаты могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.

Рабочие характеристики

Чувствительность: 1,46 ммоль/л

Линейность: до 180 ммоль/л

Диапазон измерений: 1,46 - 180 ммоль/л

Воспроизводимость

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	11,50	0,394	3,43
Образец 2	20	44,9	1,67	3,72

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	11,56	0,378	3,28
Образец 2	20	42,5	1,40	3,30

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: Билирубин прямой JG 300 (у) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (х).

Результаты: $y = 0,997 x + 0,220$ (ммоль/л) $r = 0,999$

Специфичность / Влияющие вещества

Не влияют на результаты анализа:

Гемоглобин до 10 г/л, Триглицериды до 750 мг/дл.

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.

Набор реагентов не относится к категории опасных.

Реагент 2:

EUN210 Паспорт безопасности предоставляется по запросу.

EUN208 Мистить сульфанилову кислоту. Може викликати алергічну реакцію.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов.

Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Проведение анализа

Длина волны: 546 (540-560) нм

Оптический путь: 1 см

Температура: 37 °C

Образец/реакционная смесь 1/15

Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагенты / образец.

	Образец бланк	Образец	Стандарт (калибратор) бланк	Стандарт (калибратор)
Реагент 1	1,2 мл	1,2 мл	1,2 мл	1,2 мл
Образец	0,1 мл	0,1 мл	-	-
Стандарт (калибратор)	-	-	0,1 мл	0,1 мл

Смешать, инкубировать при комнатной температуре 5 мин в защищенном от света месте. Добавить:

Рабочий раствор	-	0,2 мл	-	0,2 мл
Реагент 2	0,2 мл	-	0,2 мл	-

Смешать, инкубировать 5 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Измерить поглощение бланка образца A₁, поглощение образца A₂, поглощение бланка стандарта (калибратора) A₃ и поглощение стандарта A₄ относительно бланка реагента. Окраска стабильна 30 мин в защищенном от света месте.

Расчеты

$$\text{Билирубин (ммоль/л)} = C (\text{станд.}) \times \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)}$$

C_{std} - концентрация стандарта (калибратора)

Примечание

1. Рекомендуется использовать 0,9% раствор NaCl для бланка реагента для автоматического исследования, в случае ручного измерения можно использовать дистиллированную воду.
2. Анализ необходимо выполнять в защищенном от света месте. Окраска азобилирубина может снижаться на 10% в течение 15 мин, если образцы долго находились на свету.
3. При ручном методе анализа проводить определение с соблюдением температурного режима 15–25°C.
4. При измерении образца и стандарта (калибратора) без бланка образца и бланка стандарта были получены ложно завышенные результаты на 2-14 ммоль/л в зависимости от природы сывороток.
5. Расчет концентрации прямого билирубина (при калибровке билирубина с использованием стандарта билирубина или по калибровочному графику для общего билирубина BLT 350 S), описывается в русской версии инструкции. На других языках - доступно по запросу.

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.



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

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

N/110/22/F/INT

Дата проведения контроля: 31. 5. 2022

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
BLT00014	Билирубин прямой LIQUID (C) - определение прямого билирубина	ФСЗ 2010/07334	от 13.05.2019

БІЛІРУБІН ПРЯМИЙ JG

Кат. номер	Назва	Фасування
BLT00014	БІЛ ПР JG 300	R1: 1 x 250 мл, R2: 1 x 45 мл, R3: 1 x 3 мл



Застосування

Набір реагентів призначений для *in vitro* визначення прямого білірубину у сироватці і плазмі крові людини.

Клінічне значення

Білірубін – продукт розкладу гемоглобіну, слабкорозчинний у воді, тому у вільному вигляді не міститься у плазмі крові. Для транспортування крові від селезінки до печінки він утворює комплекс із альбуміном, що має назву некон'югований (непрямий) білірубін. У печінці відбувається кон'югація білірубину з глюкороновною кислотою з утворенням прямого (кон'югованого) білірубину, який в свою чергу екстретується у жовчні протоки. Вміст прямого білірубину підвищується при закупорці внутрішньо- та зовнішньопечінкових жовчних протоків, при uszkodженнях клітин печінки (насамперед на пізніх стадіях захворювань) і при холестазі. Моніторинг непрямого білірубину має надзвичайну важливість у неонатології, оскільки його великий вміст може призводити до uszkodжень мозку. Некон'югований білірубін можна обчислити як різницю між загальним і прямим білірубіном.

Загальний Білірубін = Непрямий Білірубін + Прямий Білірубін

Принцип реакції

Визначення вмісту прямого білірубину згідно модифікованого методу Єндрасика-Грофа, застосовного на автоматичних біохімічних аналізаторах. Прямий білірубін у сильно кислому середовищі реагує з діазотизованою сульфаніловою кислотою із утворенням азобілірубину з червоним забарвленням, який вимірюється фотометрично.

Склад реагентів

R1	
Кислота соляна	50,6 ммоль/л
R2	
Кислота соляна	≥ 170 ммоль/л
Кислота сульфанілова	29 ммоль/л
R3	
Натрію нітрит	72,5 ммоль/л

Склад реакційної суміші

Кислота соляна	≥ 62,3 ммоль/л
Кислота сульфанілова	3,7 ммоль/л
Натрію нітрит	0,36 ммоль/л

Приготування реагентів

Реагенти рідкі, готові до використання.

Реагент R1 рідкий, готовий до використання.

Приготування робочого розчину: перемішати R2 і R3 у співвідношенні 26:1.

Стабільність:	1 тиждень при 2–8°C	в затемненому місці
	5 годин при 15–25°C	із затемненому місці

Зберігання і стабільність реагентів

Невідкриті реагенти є стабільними до вичерпання вказаного терміну придатності за умови зберігання за температури 2–8 °С. Після відкриття реагенти є стабільними до вичерпання вказаного терміну придатності за умови зберігання за температури 2–25 °С, у ретельно закритих флаконах, із запобіганням контамінації реагентів.

Зразки

Сироватка, плазма (гепаринізована або EDTA). Захищати від дії світла! Дослідження проводити у відповідності до протоколу NCCLS (або аналогів).

Стабільність:	
2 дні	при 15–25°C
7 днів	при 2–8°C
3 місяці	при -20°C

Дозволяється лише однократне заморожування!

Контаміновані зразки не використовувати.

Калібрування

Для калібрування рекомендоване використання калібратора ЛІО КАЛ КАЛІБРАТОР (кат. номер BLT00069).

Контроль

Для проведення контролю якості рекомендоване використання контрольних сироваток ЛІО ГУМ Н контроль (кат. номер BLT00070) і ЛІО ГУМ П контроль (кат. номер BLT00071).

Коефіцієнт перерахунку

мг/дл x 17,1 = ммоль/л

Нормальні величини ⁴

Дорослі і діти : ≤ 3,4 ммоль/л

Наведені значення слід вважати орієнтовними. Кожна лабораторія самостійно встановлює діапазони нормальних значень.

Параметри реагентів

Наведені значення отримувалися на автоматичних аналізаторах серії ERBA XL і можуть відрізнятися від отриманих вашою лабораторією.

Чутливість:	1,46 ммоль/л
Лінійність:	180 ммоль/л
Діапазон вимірювання:	1,46 – 180 ммоль/л

Внутрішньосерійна (n=20)	Сер. значення (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Зразок 1	11,50	0,394	3,43
Зразок 2	44,9	1,67	3,72

Міжсерійна (n=20)	Сер. значення (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Зразок 1	11,56	0,378	3,28
Зразок 2	42,5	1,40	3,30

Порівняння методів

Порівняння проводилося на 40 зразках із використанням реагентів ERBA серії BLT БІЛІРУБІН ПРЯМИЙ JG (y) і комерційно доступних реагентів (x):

Результати: y = 0,997 x + 0,220 ммоль/л r = 0,999 (коефіцієнт кореляції)

Специфічність / Фактори впливу

Гемоглобін до 10 г/л, тригліцериди до 750 мг/дл не впливають на результати визначення.

Заходи безпеки

Використовувати лише для *in vitro* діагностики професійно підготовленим персоналом. Реагенти набору не класифікуються як небезпечні.

Реагент R2:

EUN210 Інформаційний матеріал з безпеки (SDS) надається за запитом.

EUN208 Містить кислоту сульфанілову. Може викликати алергічну реакцію.

Перша допомога

При випадковому ковтанні прополоскати рот водою, випити 0,5 л води. При потрапленні в очі негайно промити їх проточною водою. При потрапленні на шкіру промити теплою водою з милом. У всіх серйозних випадках ураження необхідно звернутися до лікаря.

Утилізація використаних матеріалів

Всі зразки мають розглядатися як потенційно інфіковані і разом з іншими реагентами підлягають знищенню у відповідності до діючих правил для даного виду матеріалів. Паперова упаковка і інші пакувальні матеріали (папір, скло, пластик) підлягають утилізації й переробці як сортоване сміття.

Проведення аналізу

Довжина хвилі	546 (540–560) nm
Оптичний шлях	1 cm
Температура	37 °C

Об'ємне співвідношення сироватка, плазма / реакційна суміш: 1:15.

Об'єми зразка і реагентів можуть бути змінені із збереженням вищевказаного співвідношення.

	Бланк зразка	Зразок	Бланк (калібратора) стандарту	Стандарт (калібратор)
Реагент R1	1,2 мкл	1,2 мкл	1,2 мкл	1,2 мкл
Зразок	0,1 мкл	0,1 мкл	-	-
Стандарт (калібратор)	-	-	0,1 мкл	0,1мкл
Перемішати, інкубувати протягом 5 хвилин в затемненому місці, після чого додати				
Робочий розчин	-	0,2 мкл	-	0,2 мкл
Реагент R2	0,2 мкл	-	0,2 мкл	-
Перемішати, інкубувати протягом 5 хвилин в затемненому місці. Виміряти поглинання бланку зразка A ¹ , зразка A ² , бланку стандарту A ³ і стандарту A ⁴ відносно бланку реагенту. Забарвлення продукту реакції є стабільним упродовж 30 хвилин у затемненому місці.				

Розрахунки

$$\text{Білірубін (ммоль/л)} = \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)} \times C_{\text{ст}}$$

C_{ст} = концентрація стандарту (калібратора)

Примітки:

- У якості бланку реагенту для автоматичних аналізаторів рекомендоване використання фізіологічного розчину (0,9%); для ручних вимірювань - дистильованої води.
- Аналіз необхідно проводити у затемненому місці. Інтенсивність забарвлення при дії світла зменшується на приблизно 10% кожні 15 хвилин.
- Для ручного режиму вимірювання проводити за температури 15–25 °С.
- Вимірювання без використання бланків зразка і стандарту (калібратора) може призвести до отримання хибно завищених результатів (на 2-14 ммоль/л залежно від типу сироватки).
- Процедура для випадку калібрування стандартом білірубину з набору BLT Bilirubin Total Liquid 350 S або за калібрувальною кривою описаний в російськомовній версії інструкції. Іншими мовами процедура надається за запитом.

Протоколи з параметрами аналізу для автоматичних аналізаторів надаються за запитом.

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



BILIRUBIN DIRECT JENDRASSIK GROF

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00014	BIL D JG 300	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 45 ml, R3: 1 x 3 ml



POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení přímého bilirubinu v lidském séru a plazmě.

KLINICKÝ VÝZNAM

Bilirubin je štěpný produkt hemoglobinu. Volný, nekonjugovaný bilirubin je extrémně apolární a téměř nerozpustný ve vodě, a tak pro transport v krvi ze sleziny do jater vytváří komplex s albuminem. V játrech je bilirubin konjugován s kyselinou glukuronovou a výsledné ve vodě rozpustné bilirubin glukuronidy jsou vylučovány žlučovým.

Příčinou hyperbilirubinémie může být zvýšená produkce bilirubinu, způsobená hemolýzou (pre-hepatická žloutenka), parenchymálními poškozeními jater (intra-hepatická žloutenka) nebo okluzí žlučových (post-hepatická žloutenka).

Chronická kongenitální (převážně nekonjugovaná) hyperbilirubinémie, nazývaná Gilbertův syndrom, se u populace vyskytuje dosti často. Vysoké hladiny celkového bilirubinu lze pozorovat u 60–70 % novorozenců, což je způsobeno zvýšeným poporodním štěpením erytrocytů a zpožděnou funkcí enzymů pro degradaci bilirubinu.

Běžné metody stanovení bilirubinu stanovují buďto celkový bilirubin nebo přímý bilirubin. Při stanovení přímého bilirubinu se měří zejména konjugovaný, ve vodě rozpustný bilirubin. Nekonjugovaný bilirubin lze proto stanovit jako rozdíl mezi celkovým bilirubinem a přímým bilirubinem.

PRINCIP METODY

Metoda dle Jendrassik-Gröfa v modifikaci pro automatické analyzátoři. Přímý bilirubin v silně kyselém prostředí kopuluje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku červeně zbarveného azobilirubinu, který je vhodný k fotometrickému stanovení.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1	
Kyselina chlorovodíková	50,6 mmol/l
R2	
Kyselina chlorovodíková	≥ 170 mmol/l
Kyselina sulfanilová	29 mmol/l
R3	
Dusitan sodný	72,5 mmol/l

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

Kyselina chlorovodíková	≥ 62,3 mmol/l
Kyselina sulfanilová	3,7 mmol/l
Dusitan sodný	0,36 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití.

Činidlo R1 je určeno k přímému použití.

Pracovní činidlo se připraví smícháním činidel R2 a R3 v poměru 26+1. Pracovní činidlo je stabilní:

1 týden	při 2–8°C	v temnu
5 hodin	při 15–25°C	v temnu

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Pokud jsou činidla soupravy skladována před i po otevření při 2–25°C a chráněna před světlem a kontaminací jsou stabilní do doby expirace vyznačené na obalu.

VZORKY

Sérum, plazma (EDTA, heparin) Chránit před světlem!

Doporučujeme postupovat dle NCCLS (nebo podobných standardů).

Stabilita bilirubinu v séru, plazmě:

2 dny	při 15–25°C
7 dní	při 2–8°C
3 měsíce	při -20°C

(pokud je vzorek okamžitě zamražen)

Vzorek nesmí být opakovaně zamrazován!

Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje Lyonorm Kalibrátor.

KONTROLA KVALITY

Ke kontrole se doporučuje Lyonorm HUM N a Lyonorm HUM P.

PŘEPOČET JEDNOTEK

mg/dl x 17,1 = μmol/l

REFERENČNÍ HODNOTY ⁴

fS bilirubin (μmol/l)

dospělí a děti (starší než 1 měsíc) ≤ 3,4

Referenční rozmezí je pouze orientační, doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatických analyzátořech ERBA XL. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

Dolní mez stanovitelnosti:	1,46 μmol/l
Linearity:	180 μmol/l
Pracovní rozsah:	1,46 – 180 μmol/l

PŘESNOST

Intra-assay (n=20)	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	11,50	0,394	3,43
Vzorek 2	44,9	1,67	3,72

Inter-assay (n=20)	Průměr (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	11,56	0,378	3,28
Vzorek 2	42,5	1,40	3,30

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU

Lineární regrese:

N = 40 r = 0,999 y = 0,997 x + 0,220 μmol/l

INTERFERENCE

Následující analyty neinterferují:

hemoglobin do 10 g/l, triglyceridy do 7,5 g/l.

BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odborně způsobilou osobou.

Činidla soupravy nejsou klasifikována jako nebezpečná.

Činidlo 2:

EUH210 Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list.

EUH208 Obsahuje sulfanilová kyselina. Může vyvolat alergickou reakci.

PRVNÍ POMOC

Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Při potřísnění omýt pokožku teplou vodou a mýdlem. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potencionálně infekční a spolu s případnými zbytky činidel je likvidovat podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech.

Papírové a ostatní obaly se likvidují podle druhu materiálu jako tříděný odpad (papír, sklo, plasty).

POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka: 546 (540–560) nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37 °C

Objemový poměr sérum/reakční směs 1/15

Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

	Blank vzorku	Vzorek	Blank standardu (kalibrátoru)	Standard (kalibrátor)
Činidlo R1	1,2 ml	1,2 ml	1,2 ml	1,2 ml
Vzorek	0,1 ml	0,1 ml	-	-
Standard (kalibrátor)	-	-	0,1 ml	0,1 ml
Ihned se promíchá a po 5 minutách stání ve tmě se přidá				
Pracovní činidlo	-	0,2 ml	-	0,2 ml
Činidlo 2	0,2 ml	-	0,2 ml	-
Promíchá se a po 5 minutách inkubace ve tmě se změří absorbance blanku vzorku A ₁ , absorbance vzorku A ₂ , absorbance blanku standardu (kalibrátoru) A ₃ a absorbance standardu (kalibrátoru) A ₄ proti reagenčnímu blanku. Zbarvení je za nepřístupu světla stále 30 minut.				

VÝPOČET

$$\text{Bilirubin } (\mu\text{mol/l}) = \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)} \times C_{\text{st}}$$

C_{st} = koncentrace standardu (kalibrátoru)

POZNÁMKA

- Při stanovení na analyzátoři doporučujeme k přípravě reagenčního blanku použít 0,9% roztok NaCl, u manuálního stanovení lze použít destilovanou vodu.
- Analýzu je nutné provádět za nepřístupu světla. Na světle klesá zbarvení azobilirubinu až o 10% během 15 minut.
- V případě manuálního stanovení se měří při teplotě 15–25°C.
- Pokud nejsou při analýze měřeny vlastní blanky vzorku a standardu (kalibrátoru), mohou být ve vzorku nalezeny falešně vyšší hodnoty bilirubinu, podle typu séra o 2–14 μmol/l.
- Postup analýzy v případě kalibrace na soupravu Bilirubin Standard je dodáván na vyžádání.

Aplikace na automatické analyzátoři jsou dodávány na vyžádání.



BILIRUBIN DIRECT JENDRASSIK GROF

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00014	BIL D JG 300	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 45 ml, R3: 1 x 3 ml

SK



IVD

POUŽITIE

Diagnostická súprava na kvantitatívne *in vitro* stanovenie priameho bilirubínu v ľudskom sére a plazme.

KLINICKÝ VÝZNAM

Bilirubín je štiepny produkt hemoglobínu. Voľný, nekonjugovaný bilirubín je extrémne apolárny a takmer nerozpustný vo vode, a tak na transport v krvi zo sleziny do pečene vytvára komplex s albumínom. V pečeni je bilirubín konjugovaný s kyselinou glukuronovou a výsledné vo vode rozpustné bilirubín glukuronidy sú vylučované žľazodod.

Príčinou hyperbilirubínémie môže byť zvýšená produkcia bilirubínu, spôsobená hemolýzou (prehepatická žltáčka), parenchymálnymi poškodeniami pečene (intra-hepatická žltáčka) alebo oklúziou žlučodvodov (post-hepatická žltáčka).

Chronická kongenitálna (prevažne nekonjugovaná) hyperbilirubínémia, nazývaná Gilbertov syndróm, sa v populácii vyskytuje pomerne často. Vysoké hladiny celkového bilirubínu je možné pozorovať u 60–70 % novorodencov, čo je spôsobené zvýšeným pôrodným štiepením erytrocytov a oneskorenou funkciou enzýmov na degradáciu bilirubínu.

Bežné metódy stanovovania bilirubínu stanovujú buď celkový bilirubín alebo priamy bilirubín. Pri stanovení priameho bilirubínu sa meria hlavne konjugovaný, vo vode rozpustný bilirubín. Nekonjugovaný bilirubín je možné preto stanoviť ako rozdiel medzi celkovým bilirubínom a priamym bilirubínom.

PRINCÍP METÓDY

Metóda podľa Jendrassik-Grofa v modifikácii pre automatické analyzátory. Priamy bilirubín v silno kyslom prostredí kopuluje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku červeno sfarbeného azobilirubínu, ktorý je vhodný na fotometrické stanovenie.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1
Kyselina chlorovodíková 50,6 mmol/l

R2
Kyselina chlorovodíková ≥ 170 mmol/l
Kyselina sulfanilová 29 mmol/l

R3
Dusitan sodný 72,5 mmol/l

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI

Kyselina chlorovodíková ≥ 62,3 mmol/l
Kyselina sulfanilová 3,7 mmol/l
Dusitan sodný 0,36 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené k použitiu.

Činidlo R1 je určené na prímé použitie.

Pracovné činidlo sa pripraví zmiešaním činidiel R2 a R3 v pomere 26+1. Pracovné činidlo je stabilné:

1 týždeň pri 2–8°C v tme

5 hodín pri 15–25°C v tme

SKLADOVANIE A STABILITA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Pokiaľ sú činidlá súpravy skladované pred aj po otvorení pri 2–25°C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú stabilné do doby expirácie vyznačenej na obale.

VZORKY

Sérum, plazma (EDTA, heparín). Chrániť pred svetlom!

Doporučujeme postupovať podľa NCCLS (alebo podobných štandardov).

Stabilita bilirubínu v sére, plazme:

2 dni pri 15–25°C

7 dní pri 2–8°C

3 mesiace pri -20°C

(pokiaľ je vzorka okamžite zamrazená)

Vzorka nesmie byť opakovane zmrazená!

Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu sa doporučuje Lyonorm Kalibrátor.

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu sa doporučuje Lyonorm HUM N a Lyonorm HUM P.

PREPOČET JEDNOTIEK

mg/dl x 17,1 = μmol/l

REFERENČNÉ HODNOTY⁴

fS bilirubín (μmol/l)

dospelí a deti (staršie než 1 mesiac) ≤ 3,4

Referenčné rozmedzie je iba orientačné, doporučuje sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zabezpečuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatických analyzátoroch ERBA XL. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt líšiť.

Dolná medza stanoviteľnosti: 1,46 μmol/l
Linearita: 180 μmol/l
Pracovný rozsah: 1,46 – 180 μmol/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	11,50	0,394	3,43
Vzorka 2	44,9	1,67	3,72

Inter-assay (n=20)	Priemer (μmol/l)	SD (μmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	11,56	0,378	3,28
Vzorka 2	42,5	1,40	3,30

POROVNANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU

Lineárna regresia:

N = 40 r = 0,999 y = 0,997 x + 0,220 μmol/l

INTERFERENCIE

Nasledujúce analyty neinterferujú:

hemoglobín do 10 g/l, triglyceridy do 750 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Určené na *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a odborne spôsobilou osobou.

Činidlá súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

Činidlo 2:

EUH210 Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov.

EUH208 Obsahuje kyselina sulfanilová. Môže vyvolať alergickú reakciu.

PRVÁ POMOC

Pri náhodnom požití vypláchnuť ústa a vypiť asi 0,5 l vody, pri vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Pri postriekaní umyť pokožku teplou vodou a mydlom. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadať lekársku pomoc.

NAKLADANIE S ODPADMI

Všetky spracované vzorky je nutné považovať ako potenciálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidiel ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákonom o odpadoch.

Papierové a ostatné obaly sa likvidujú podľa druhu materiálu ako triedený odpad (papier, sklo, plasty).

POSTUP MERANIA

Vlnová dĺžka: 546 (540–560) nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Objemový pomer sérum/reakčná zmes 1/15

Objem pracovných roztokov a vzoriek je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

	Blank vzorky	Vzorka	Blank štandardu (kalibrátora)	Štandard (kalibrátor)
Činidlo R1	1,2 ml	1,2 ml	1,2 ml	1,2 ml
Vzorka	0,1 ml	0,1 ml	-	-
Štandard (kalibrátor)	-	-	0,1 ml	0,1 ml

Ihneď sa premieša a po 5 minútach státi v tme sa pridá

Pracovné činidlo	-	0,2 ml	-	0,2 ml
Činidlo 2	0,2 ml	-	0,2 ml	-

Premieša sa a po 5 minútach inkubácie v tme sa zmeria absorbancia blanku vzorky A₁, absorbancia vzorky A₂, absorbancia blanku štandardu (kalibrátora) A₃ a absorbancia štandardu (kalibrátora) A₄ oproti reagenčnému blanku.

Zafarbenie v neprítomnosti svetla je stále 30 minút.

VÝPOČET

$$\text{Bilirubín } (\mu\text{mol/l}) = \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)} \times C_{\text{st}}$$

C_{st} = koncentrácia štandardu (kalibrátora)

POZNÁMKA

- Pri stanovení na analyzátoe doporučujeme na prípravu reagenčného blanku použiť 0,9% roztok NaCl, u manuálneho stanovenia je možné použiť destilovanú vodu.
- Analýzu je potrebné vykonávať bez prístupu svetla. Na svetle klesá zafarbenie azobilirubínu až o 10% v priebehu 15 minút.
- V prípade manuálneho stanovenia sa meria pri teplote 15–25°C.
- Pokiaľ nie sú pri analýze merané vlastné blanky vzorky a štandardu (kalibrátora), môže vzorka vykazovať falošne vyššie hodnoty bilirubínu, podľa typu séra o 2–14 μmol/l.
- Postup analýzy v prípade kalibrácie na súpravu Bilirubin Standard je dodávaný na vyžiadanie.









Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.



REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / ЛІТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA

1. Jendrassik, L., Gróf, P.: Biochem. Z. 297, 81, 1938
2. Dumas, B. T., Kwok-Cheung, P. P., Perry, B. W. a kol.: Clin. Chem. 3, 1779,1985
3. Garber, C. C.: Clin. Chem. 27, 1410,1981
4. Tietz, N. W.: Textbook Of Clin. Chem., 1169-71, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1999

USED SYMBOLS / ИСПОЛЪЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ / ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ POUŽITÉ SYMBOLY

 REF	Catalogue Number Каталожный номер Kataložný номер Katalogové číslo Katalógové číslo	 Manufacturer Производитель Виробник Výrobce Výrobca	 See Instruction for Use Перед использованием внимательно изучайте инструкцию Перед використанням уважно вивчіть інструкцію Čtěte návod k použití Čítajte návod k použitiu
 LOT	Lot Number Номер партии Номер партії Číslo šarže	 IVD	In Vitro Diagnostics Ин витро диагностика In vitro diagnostika In vitro diagnostikum
 Expiry Date	Expiry Date Срок годности Термін придатності Datum expirace Dátum expirácie	 CONT	Content Содержание Вміст Obsah
		 Национальный знак відповідності для України	Storage Temperature Температура хранения Температура зберігання Teplota skladování Teplota skladovania

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485



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

N/110/22/F/INT

Date of revision: 31. 5. 2022