BILIRUBIN TOTAL JENDRASSIK GROF
(with STANDARD)

Cat. No.	Pack Name	Packing (Content)
BLT00013	BIL T JG 350 S	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 90 ml, R3: 1 x 3 ml, R4 STD: 1 x 4 ml, R5: 1 x 8 ml

EN

CE IVD

INTENDED USE
Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of Total Bilirubin 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 bakteria 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 Total bilirubin in human serum and plasma according to Jendrassik-Gróf modif. method, convenient for use on automatic analysers.
Nonconjugated (free) bilirubin is released from the bound to albumin in the presence of accelerator. Bilirubin (free and direct) then react in strongly acid medium with diazotized sulfanilic acid forming red coloured azobilirubin, useful for photometric determination.

REAGENT COMPOSITION
R1 (ACCELERATOR)
Sodium benzoate 387 mmol/l
EDTA 2.7 mmol/l
Caffeine 192 mmol/l
Sodium acetate 680 mmol/l
R2
Hydrochloric acid ≥ 170 mmol/l
Sulfanilic acid 29 mmol/l
R3
Sodium nitrite 72.5 mmol/l
R4 Standard
for the preparation of bilirubin solution a µmol/l
R5 (ALBUMIN) for the preparation of albumin solution 20 g/l

REACTION MIXTURE
Sodium benzoate 285.1 mmol/l
EDTA 2.0 mmol/l
Caffeine 141.8 mmol/l
Sodium acetate 501.4 mmol/l
Hydrochloric acid ≥ 34.7 mmol/l
Sulfanilic acid 5.9 mmol/l
Sodium nitrite 0.48 mmol/l

REAGENT PREPARATION
Reagents R1, R2 and R3 are liquid, ready to use.
Reagent 1 is liquid ready to use.
Preparation of working solution:
mix reagents R2 and R3 in ratio 31+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 2–8°C, the kit is stable until expiry date, that is stated on the package.
Reagents R1, R2 and R3 are liquid. After opening, this reagents are stable until expiry date at 2–8°C if stored at appropriate temperature conditions, closed carefully and without any contamination.

Preparation and stability of working solutions for calibration – see below.

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 the standard included in the kit or the calibrator Lyonorm CALIBRATOR is recommended.

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]
newborn ≤ 171
adults and children (older then 1 month) 3.4 – 17.1
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: 1.37 µmol/l
Linearity: 500 µmol/l
Measuring range: 1.37 – 500 µmol/l

Intra-assay precision Within run (n=20)	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Sample 1	24.63	0.34	1.38
Sample 2	89.1	0.96	1.08

Inter-assay precision Run to run (n=20)	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Sample 1	24.5	0.86	3.52
Sample 2	86.6	1.59	1.83

COMPARISON
A comparison between BIL T JG 350 (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results: y = 1.022 x + 0.360 µmol/l r = 0.997

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, but contain sodium nitrite in low concentration, toxic substance dangerous for environment.

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 (+15 – +25) 37 °C
Serum/reaction mixture ratio 1/19
Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio.

	Reagent Blank	Sample Blank	Sample
Reagent R1	0.7 ml	0.7 ml	0.7 ml
Distilled water	0.05 ml	-	-
Sample	-	0.05 ml	0.05 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	-
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, against reagent blank. The coloration is stable 30 minutes protected from the light.			

PREPARATION OF WORKING SOLUTIONS FOR CALIBRATION
Bilirubin solution
Dissolve the content of the vial with Reagent 4 in 4.00 ml of dist. water. Solution contains exactly a µmol/l of bilirubin. Stable for approx. 3 days at 2–8°C in dark.
Albumin solution
Dissolve the content of the vial with Reagent 5 in 8.00 ml of dist. water. Solution contains albumin 20 g/l. Stable for min. one week at 2–8°C.
Calibration solutions

Solution No.	Bilirubin solution a µmol/l (ml)	Albumin solution (ml)	Resulting bilirubin concentration (µmol/l)
1	0.10	1.90	0.050 . a
2	0.25	1.75	0.125 . a
3	0.50	1.50	0.250 . a
4	0.75	1.25	0.375 . a
5	1.00	1.00	0.500 . a

where a is the bilirubin concentration given on the label of Reagent 4.

Solutions for calibration are handled as well as sample, only in the case of reagent blank, albumin is used instead of distilled water (R5 reagent solution). Plot a calibration curve as the dependence of absorbance ($A_2 - A_1$) on the content of bilirubin in the calibration solution (µmol/l).

CALCULATION
Concentration of bilirubin in the sample, read from the calibration graph.
Use for calculating, the difference the absorbance of the sample A_2 and the absorbance of the sample blank A_1 ($A_2 - A_1$).

NOTE
1. It is recommended to use 0.9% saline for reagent blank for automatic procedure, in case of manual measurement can be used distilled water.
2. 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.
3. In case of manual procedure, measure at 15–25°C.
4. 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.

Applications for automatic analysers will be supplies on request.

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

N/109/14/A/INT *Date of revision: 15.8. 2014*

12000172

БИЛИРУБИН ОБЩИЙ JENDRASSIK GROF
(со Стандартом)

Кат. №	Название на упаковке	Фасовка
BLT00013	БИЛ ОБ JG 350 C	R1: 1 x 250 мл, R2: 1 x 90 мл, R3: 1 x 3 мл, R4 STD: 1 x 4 мл, R5: 1 x 8 мл

RU

CE IVD

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 неконьюгированный (непрямой) билирубин. В печени происходит коньюгация билирубина с глюкуроновой кислотой, образуется прямой (коньюгированный) 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), холестазе.

Принцип реакции
Связанный с альбумином билирубин освобождается в присутствии акселератора. Билирубин (неконьюгированный и прямой) реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием азосоединения красного цвета. Интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации общего билирубина и измеряется фотометрически.

Состав реагентов
R1 (Акселератор)
Бензоат натрия 387 ммоль/л
ЭДТА 2,7 ммоль/л
Кофеин 192 ммоль/л
Ацетат натрия 680 ммоль/л
R2
Соляная кислота ≥ 170 ммоль/л
Сульфаниловая кислота 29 ммоль/л
R3
Нитрит натрия 72,5 ммоль/л
R4 Стандарт (1 флакон)
Для приготовления раствора билирубина a мкмоль/л
R5 (Альбумин) (1 флакон)
Для приготовления раствора альбумина 20 г/л

Состав реакционной смеси
Бензоат натрия 285,1 ммоль/л
ЭДТА 2,0 ммоль/л
Кофеин 141,8 ммоль/л
Ацетат натрия 501,4 ммоль/л
Соляная кислота ≥ 34,7 ммоль/л
Сульфаниловая кислота 5,9 ммоль/л
Нитрит натрия 0,48 ммоль/л

Подготовка реагентов
Реагенты R1, R2 и R3 жидкие, готовые к использованию.
Реагент 1 жидкий, готовый к использованию.
Подготовка рабочего реагента:
Смешайте реагенты R2 и R3 в соотношении 31+1.
Стабильность: 1 неделя при 2–8°C в защищенном от света месте.
5 часов при 15–25° C в защищенном от света месте.

Хранение и стабильность рабочих реагентов
Если рабочие реагенты хранятся при 2–8°C, набор стабилен до окончания срока годности, указанного на упаковке.
Реагенты R1, R2 и R3 жидкие. После вскрытия, реагенты стабильны до указанного срока годности, если хранятся при 2–25°C, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.

Образцы
Негемолизированная 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 Билирубин стандарт или 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 = мкмоль/л

Нормальные величины [4]
Билирубин общий (мкмоль/л)
Новорожденные ≤ 171
Взрослые и дети (старше1 месяца) 3,4 – 17,1
Приведенные величины 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: 1,37 мкмоль/л
Линейность: до 500 мкмоль/л
Диапазон измерений: 1,37 – 500 мкмоль/л

Воспроизводимость

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (мкмоль/л)	SD (мкмоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	24,63	0,34	1,38
Образец 2	20	89,1	0,96	1,08

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (мкмоль/л)	SD (мкмоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	24,5	0,86	3,52
Образец 2	20	86,6	1,59	1,83

Сравнение методов
Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: Билирубин общий JG 350 S(y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).
Результаты: y = 1,022 x + 0,360 (мкмоль/л) r = 0,997

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.
Реагенты, входящие в набор не содержат опасные вещества.

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: (+15 – +25) 37 °C
Образец/реакционная смесь 1/19
Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагенты / образец.

	Реагент бланк	Образец бланк	Образец
Реагент 1	0,7 мл	0,7 мл	0,7 мл
Дистил.вода	0,05 мл	-	-
Образец	-	0,05 мл	0,05 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	-

Смешать, инкубировать 5 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте.
Измерить поглощение бланка образца A_1, поглощение образца A_2, поглощение бланка стандарта A_3 и поглощение стандарта A_4 относительно бланка реагента.
Окраска стабильна 30 мин в защищенном от света месте.

Приготовление рабочих растворов для калибровки
Раствор билирубина
Во флакон с реагентом 4 (стандарт билирубина) точно отмерить 4 мл дистиллированной воды, растворить осторожно перемешивая. Раствор содержит точно a мкмоль/л билирубина. Стабильность: 3 дня при 2–8°C в темном месте.
Раствор альбумина
Во флакон с реагентом 5 (стандарт альбумина) точно отмерить 8 мл дистиллированной воды, растворить осторожно перемешивая. Раствор содержит 20 г/л альбумина.
Стабильность: 1 неделя при 2–8°C в темном месте.

Приготовление калибровочных растворов

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

a – концентрация билирубина, указанная на этикетке флакона с реагентом 4 (стандарт билирубина).
Проанализируйте калибровочные растворы билирубина также как образцы, используя для реагента бланка раствор альбумина (реагент 5), вместо дистиллированной воды. Постройте калибровочный график зависимости величины оптической плотности (A2 - A1) от содержания билирубина в калибровочном растворе в мкмоль/л.

Расчеты
Рассчитайте концентрацию билирубина в образце по калибровочному графику. Для расчета используйте величину разницы оптической плотности между поглощением образца и бланка образца (A2 - A1).

Примечание
1. Рекомендуется использовать 0,9% раствор NaCl для бланка реагента при автоматическом исследовании, 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 мкмоль/л в зависимости от природы сывороток.
Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

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

12000172
N/109/14/A/INT Дата проведения последнего контроля: 15 .8. 2014

BILIRUBIN TOTAL JENDRASSIK GROF
(with STANDARD)

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00013	BIL T JG 350 S	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 90 ml, R3: 1 x 3 ml, R4 STD: 1 x 4 ml, R5: 1 x 8 ml

CZ

CE IVD

POUŽITÍ
Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení celkového 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 žlučovodem.
Příčinou hyperbilirubinémie může být zvýšená produkce bilirubinu, způsobená hemolýzou (pre-hepatická žloutenka), parenchymálními poškozeními jater (intra-hepatická žloutenka) nebo okluzí žlučovodů (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 stanovování 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-Grófa v modifikaci vhodné pro použití na automatických analyzátorech. Nekonjugovaný bilirubin se v přítomnosti akcelerátoru uvolní z vazby na albumin. Bilirubin (volný a přímý) pak kopuluje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou v silně kyselém prostředí za vzniku červeně zbarveného azobilirubinu, který je vhodný k fotometrickému stanovení.

SLOŽENÍ ČINIDEL
R1 (AKCELERÁTOR)

Benzoan sodný	387 mmol/l
Chelaton 3	2,7 mmol/l
Kofein	192 mmol/l
Octan sodný	680 mmol/l

R2

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

R3

Dusitan sodný	72,5 mmol/l

R4 Standard
k přípravě roztoku a µmol/l
R5 (Albumin) k přípravě roztoku 20 g/l

Složení reakční směsi

Benzoan sodný	285,1 mmol/l
Chelaton 3	2,0 mmol/l
Kofein	141,8 mmol/l
Octan sodný	501,4 mmol/l
Kyselina chlorovodíková	≥ 34,7 mmol/l
Kyselina sulfanilová	5,9 mmol/l
Dusitan sodný	0,48 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNICH ROZTOKU
Činidla R1, R2 a R3 jsou kapalná, připravená k použití.
Činidlo R1 je určeno k přímému použití.
Pracovní činidlo se připraví smícháním činidel R2 a R3 v poměru 31+1. Pracovní činidlo je stabilní:
1 týden při 2–8°C v temnu
5 hodin při 15–25°C v temnu

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNICH ROZTOKU
Je-li dodržena teplota skladování při 2–8°C, je souprava stabilní do data exspirace, uvedeného na obalu.
Činidla R1, R2 a R3 jsou kapalná a po otevření stabilní při 2–25°C do data exspirace, uzavřená a chráněná před kontaminací.

Příprava a stabilita roztoků pro kalibraci viz. níže.

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
Vzorek nesmí být opakovaně zamražován!
Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE
Ke kalibraci se doporučuje Lyonorm Kalibrátor nebo standard, který je součástí soupravy.

KONTROLA KVALITY
Ke kontrole se doporučuje Lyonorm HUM N, Lyonorm HUM P.

PŘEPOČET JEDNOTEK
mg/dl x 17,1 = µmol/l

REFERENČNÍ HODNOTY [4]
fS bilirubin (µmol/l)
novorozenci ≤ 171
dospělí a děti (starší než 1 měsíc) 3,4 - 17,1
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 analyzátorech ERBA XL. Data získaná ve vaší laboratoří se mohou od těchto hodnot lišit.
Dolní mez stanovitelnosti: 1,37 µmol/l
Linearita: 500 µmol/l
Pracovní rozsah: 1,37 – 500 µmol/l

PŘESNOST

Intra-assay (n=20)	Průměr (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	24,63	0,34	1,38
Vzorek 2	89,1	0,96	1,08

Inter-assay (n=20)	Průměr (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	24,5	0,86	3,52
Vzorek 2	86,6	1,59	1,83

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU
Lineární regrese:
N = 40 r = 0,997 y = 1,022 x +0,360 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, avšak obsahují v nízké koncentraci dusitan sodný, který je toxický a nebezpečný pro životní prostředí.

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: (+15 až +25) 37 °C
Objemový poměr sérum/reakční směs 1/19
Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

	Reagenční blank	Blank vzorku	Vzorek
Činidlo R1	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
Destilovaná voda	0,05 ml	-	-
Vzorek	-	0,05 ml	0,05 ml
Ihned se promíchá a po 5 minutách stání ve tmě se přidá			
Pracovní činidlo	0,2 ml	-	0,2 ml
Činidlo R2	-	0,2 ml	-
Promíchá se a po 5 minutách stání ve tmě se změří absorbance blanku vzorku A_1 a absorbance vzorku A_2 proti reagenčnímu blanku. Zbarvení je za nepřístupu světla stálé 30 minut.			

Příprava pracovních roztoků pro kalibraci

Roztok bilirubinu
Do lahvičky s činidlem R4 (standard bilirubinu) se odměří přesně 4,00 ml destilované vody, lahvička se uzavře a její obsah se rozpustí za mírného promíchávání. Roztok obsahuje přesně a µmol bilirubinu/l. Při teplotě 2–8°C a v temnu je roztok stálý asi 3 dny.

Roztok albuminu
Do lahvičky s činidlem R5 (albumin) se odměří přesně 8,00 ml destilované vody a její obsah se rozpustí za mírného promíchávání. Roztok obsahuje asi 20 g albuminu/l. Při teplotě 2–8°C je roztok stálý nejméně 1 týden.

Příprava kalibračních roztoků

Roztok č.	Roztok bilirubinu a µmol/l (ml)	Roztok albuminu (ml)	Výsledná koncentrace bilirubinu (µmol/l)
1	0,10	1,90	0,050 . a
2	0,25	1,75	0,125 . a
3	0,50	1,50	0,250 . a
4	0,75	1,25	0,375 . a
5	1,00	1,00	0,500 . a

a – koncentrace bilirubinu uvedená na etiketě lahvičky s činidlem R4
Kalibrační roztoky se zpracují stejně jako vzorek, pouze se u reagenčního blanku použije místo destilované vody roztok albuminu (roztok činidla R5).
Sestrojí se kalibrační křivka jako závislost absorbance (A_2 - A_1) na obsahu bilirubinu v kalibračním roztoku v µmol/l.

VÝPOČET
Obsah bilirubinu ve vzorku se odečte z kalibračního grafu. K výpočtu se bere rozdíl absorbance vzorku a absorbance blanku vzorku (A2 - A1).

POZNÁMKA
1. Při stanovení na analyzátoru doporučujeme k přípravě reagenčního blanku použít 0,9 % roztok NaCl, u manuálního stanovení lze použít destilovanou vodu.
2. Analýzu je nutné provádět za nepřístupu světla. Na světle klesá zbarvení azobilirubinu až o 10% během 15 minut.
3. V případě manuálního stanovení se měří při teplotě 15–25°C.
4. 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.

Aplikace na automatické analyzátory jsou dodávány na vyžádání.

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

12000172
N/109/14/A/INT *Datum revize: 15.8. 2014*

BILIRUBIN TOTAL JENDRASSIK GROF
(with STANDARD)

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00013	BIL T JG 350 S	R1: 1 x 250 ml, R2: 1 x 90 ml, R3: 1 x 3 ml, R4 STD: 1 x 4 ml, R5: 1 x 8 ml

SK

CE IVD

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

KLINICKÝ VÝZNAM
Bilirubín je štiepny produkt hemoglobínu. Voľný, nekonjugovaný bilirubiín 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 žlčovodom.
Príčinou hyperbilirubinémie môže byť zvýšená produkcia bilirubínu, spôsobená hemolýzou (prehepatická žltačka), parenchymálnymi poškodeniami pečene (intra-hepatická žltačka) alebo oklúziou žlčovodov (post-hepatická žltačka).
Chronická kongenitálna (prevažne nekonjugovaná) hyperbilirubinémia, nazývaná Gilbertov syndróm, sa u populácie vyskytuje pomerne často. Vysoké hladiny celkového bilirubínu je možné pozorovať u 60 –70 % novorodencov, čo je spôsobené zvýšeným popôrodným 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-Grófa v modifikácii vhodnej na použitie na automatických analyzátoroch.
Nekonjugovaný bilirubín sa v prítomnosti akcelerátora uvoľní z väzby na albumín. Bilirubín (voľný a priamy) potom kopuluje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou v silno kyslom prostredí za vzniku červeno sfarbeného azobilirubínu, ktorý je vhodný na fotometrické stanovenie.

ZLOŽENIE ČINIDIEL
R1 (AKCELERÁTOR)
Benzoan sodný 387 mmol/l
Chelaton 3 2,7 mmol/l
Kofein 192 mmol/l
Octan sodný 680 mmol/l
R2
Kyselina chlorovodíková ≥ 170 mmol/l
Kyselina sulfanilová 29 mmol/l
R3
Dusitan sodný 72,5 mmol/l
R4 Štandard
na prípravu roztoku a µmol/l
R5 (Albumín)
na prípravu roztoku 20 g/l

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI
Benzoan sodný 285,1 mmol/l
Chelaton 3 2,0 mmol/l
Kofein 141,8 mmol/l
Octan sodný 501,4 mmol/l
Kyselina chlorovodíková ≥ 34,7 mmol/l
Kyselina sulfanilová 5,9 mmol/l
Dusitan sodný 0,48 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV
Činidlá R1, R2 a R3 sú kvapalné, pripravené na použitie.
Činidlo R1 je určené na priame použitie.
Pracovné činidlo sa pripraví zmiešaním činidiel R2 a R3 v pomere 31+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
Ak je dodržaná teplota skladovania pri 2–8°C, je súprava stabilná do dátumu expirácie, uvedeného na obale.
Činidlá R1, R2 a R3 sú kvapalné a po otvorení stabilné pri 2–25°C do dátumu expirácie, uzatvorené a chránené pred kontamináciou.

Príprava a stabilita roztokov na kalibráciu viď. nižšie.

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
Vzorka nesmie byť opakovane zmrazená!
Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA
Na kalibráciu sa doporučuje Lyonorm Kalibrátor.

KONTROLA KVALITY
Na kontrolu sa doporučuje Lyonorm HUM N, Lyonorm HUM P.

PREPOČET JEDNOTIEK
mg/dl x 17,1 = µmol/l

REFERENČNÉ HODNOTY [4]
fS bilirubín (µmol/l)
novorodenci ≤ 171
dospelí a deti (staršie než 1 mesiac) 3,4 - 17,1
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: 1,37 µmol/l
Linearita: 500 µmol/l
Pracovný rozsah: 1,37 – 500 µmol/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	24,63	0,34	1,38
Vzorka 2	89,1	0,96	1,08

Inter-assay (n=20)	Priemer (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	24,5	0,86	3,52
Vzorka 2	86,6	1,59	1,83

POROVNANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU
Lineárna regresia:
N = 40 r = 0,997 y = 1,022 x +0,360 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, avšak obsahujú v nízkej koncentrácii dusitan sodný, ktorý je toxický a nebezpečný pre životné prostredie.

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: (+15 až +25) 37 °C
Objemový pomer sérum/reakčná zmes 1/19
Objem pracovných roztokov a vzorky je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

	Reagenčný blank	Blank vzorky	Vzorka
Činidlo R1	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
Destilovaná voda	0,05 ml	-	-
Vzorka	-	0,05 ml	0,05 ml
Ihneď sa premieša a po 5 minútach státia v tme sa pridá			
Pracovné činidlo	0,2 ml	-	0,2 ml
Činidlo R2	-	0,2 ml	-
Premieša sa a po 5 minútach inkubácie v tme sa zmeria absorbancia blanku vzorky A_1, absorbancia vzorky A_2, oproti reagenčnému blanku. Zafarbenie v neprítomnosti svetla je stále 30 minút.			

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV NA KALIBRÁCIU

Roztok bilirubínu
Do fľaštičky s činidlom R4 (štandard bilirubínu) sa odmerajú presne 4,00 ml destilovanej vody, fľaštička sa uzavrie a jej obsah sa rozpustí za mierneho premiešavania. Roztok obsahuje presne a µmol bilirubínu/l. Pri teplote 2–8°C a v tme je roztok stály asi 3 dni.

Roztok albumínu
Do fľaštičky s činidlom R5 (albumín) sa odmeria presne 8,00 ml destilovanej vody a jej obsah sa rozpustí za mierneho premiešavania. Roztok obsahuje asi 20 g albumínu/l. Pri teplote 2–8°C je roztok stály najmenej 1 týždeň.

Príprava kalibračných roztokov

Roztok č.	Roztok bilirubínu a µmol/l (ml)	Roztok albumínu (ml)	Výsledná koncentracia bilirubínu (µmol/l)
1	0,10	1,90	0,050 . a
2	0,25	1,75	0,125 . a
3	0,50	1,50	0,250 . a
4	0,75	1,25	0,375 . a
5	1,00	1,00	0,500 . a

a – koncentrácia bilirubínu uvedená na etikete fľaštičky s činidlom R4
Kalibračné roztoky sa spracujú tak isto ako vzorka, iba u reagenčného blanku sa použije namiesto destilovanej vody roztok albumínu (roztok činidla R5).
Zostrojí sa kalibračná krivka ako závislosť absorbancie (A_2 - A_1) na obsahu bilirubínu v kalibračnom roztoku v µmol/l.

VÝPOČET
Obsah bilirubínu vo vzorke sa odčíta z kalibračného grafu. Na výpočet sa berie rozdiel absorbancie vzorky a absorbancie blanku vzorky (A_2 - A_1).

POZNÁMKA
1. Pri stanovení na analyzátore doporučujeme na prípravu reagenčného blanku použiť 0,9 % roztok NaCl, u manuálního stanovenia je možné použiť destilovanú vodu.
2. Analýzu je nutné vykonávať bez prístupu svetla. Na svetle klesá zafarbenie azobilirubínu až o 10 % v priebehu 15 minút.
3. V prípade manuálneho stanovenia sa meria pri teplote 15–25°C.
4. 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.

Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.

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

12000172
N/109/14/A/INT *Dátum revízie: 15.8. 2014*

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA

1. Jendrassik, L., Gróf, P.: Biochem. Z. 297, 81, 1938
2. Doumas, 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

SYMBOLS USED ON LABELS / СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ / SYMBOLY, POUŽITÉ NA ETIKETÁCH

REF
Catalogue Number
Каталожный №
Katalogové číslo
Katalógové číslo

Manufacturer
Производитель
Výrobce
Výrobca

See Instruction for Use
Перед использованием внимательно изучайте инструкцию
Čtěte návod k použití
Čítajte návod k použitiu

LOT
Lot Number
Номер партии
Číslo šarže

CE Mark - Device comply with the Directive 98/79/EC
Знак CE - соответствие Директиве 98/79/EC

Storage Temperature
Температура хранения
Teplota skladování
Teplota skladovania

Expiry Date
Срок годности
Datum expirace
Dátum exspirácie

IVD
In Vitro Diagnostics
Для in vitro диагностики
In vitro Diagnostikum

CONT
Content / Содержание / Obsah

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

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

12000172

N/109/14/A/INT Date of revision: 15.8.2014