



БИЛИРУБИН ОБЩИЙ LIQUID 350 C (BIL T L 350 S)

Кат. № 10008205

Хранить при (+2 – +8) °C

Набор реагентов для определения общего билирубина в сыворотке и плазме, модифицированным методом Jendrassik-Gróf. Набор предназначен для ручного и автоматизированного определения.

Метод

Связанный с альбумином билирубин освобождается в присутствии ускорителя. Билирубин (неконъюгированный и прямой) реагирует с диазотированной сульфаниловой кислотой, с образованием красноокрашенного продукта. Интенсивность образующейся окраски пропорциональна концентрации общего билирубина и измеряется фотометрически.

Состав реагентов

R1 Реагент 1 (Ускоритель)	1x250 мл
Бензоат натрия	387 ммоль/л
ЭДТА	2,7 ммоль/л
Кофеин	192 ммоль/л
Ацетат натрия	680 ммоль/л

R2 Реагент 2	1x90 мл
Соляная кислота	≥ 170 ммоль/л
Сульфаниловая кислота	29 ммоль/л

R3 Реагент 3	1x3 мл
Нитрит натрия	72,5 ммоль/л

R4 Стандарт билирубина	(1 флакон)
Для приготовления раствора билирубина а ммоль/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

Приготовление и стабильность рабочих реагентов

Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +8) °C.

Реагенты R1, R2 и R3 жидкие и стабильны до указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +25) °C, при условии соблюдения хранения, в тщательно закрытых флаконах, избегая контаминации реагентов.

Реагент R1 готовый к использованию.

Приготовление рабочего реагента: смешать реагент R2 и реагент 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

Образцы

Сыворотка или плазма (гепарин, ЭДТА)

Избегать гемолиза. Образцы должны быть защищены от света.

Стабильность: Содержание билирубина в образце стабильно 7 дней при (+2 – +8) °C.

Калибровка

Для калибровки рекомендуется использовать стандарт, входящий в состав набора или Билирубин стандарт Кат. № 10003139.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуются контрольные сыворотки:

Лионорм ГУМ Н, Кат. № 10003204

Лионорм ГУМ П, Кат. № 10003206

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 реагент/образец.	

	Реагент бланк	Образец бланк	Образец
Реагент R1	0,7 мл	0,7 мл	0,7 мл
Дистил. вода	0,05 мл	–	–
Образец	–	0,05 мл	0,05 мл
Смешать, инкубировать 5 мин в защищенном от света месте. Добавить:			
Рабочий раствор	0,2 мл	–	0,2 мл
Реагент R2	–	0,2 мл	–
Смешать, инкубировать 5 мин в защищенном от света месте Измерить поглощение бланка образца A1, поглощение образца A2, поглощение бланка стандарта A3 and поглощение стандарта A4 относительно бланка реагента.			

Окраска стабильна 30 мин в защищенном от света месте.

Калибровка

Приготовление рабочих растворов для калибровки

Раствор билирубина

Во флакон с реагентом R4 (стандарт билирубина) точно отмерить 4 мл дистиллированной воды, растворить осторожно перемешивая. Раствор содержит точно а ммоль/л билирубина.

Стабильность: 3 дня при (+2 – +8) °C в темном месте

Раствор альбумина

Во флакон с реагентом R5 (стандарт альбумина) точно отмерить 8 мл дистиллированной воды, растворить осторожно перемешивая. Раствор содержит 20 г/л альбумина.

Приготовление калибровочных растворов

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

а – концентрация билирубина, указанная на этикетке флакона с реагентом 4 (стандарт билирубина).

Проанализируйте калибровочные растворы билирубина также как образцы, используя для бланка реагента раствор альбумина (реагент 5), вместо дистиллированной воды. Постройте калибровочный график зависимости величины оптической плотности (A2 – A1) от содержания билирубина в калибровочном растворе в ммоль/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).

Нормальные величины

Билирубин (ммоль/л)

Новорожденные

≤ 171

Взрослые и дети (старше 1 месяца)

3,4 – 17,1

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

Рабочие характеристики

Линейность:

до 500 ммоль/л

Чувствительность:

0,31 ммоль/л

Нижний предел определения:

0,93 ммоль/л

Диапазон измерений:

0,9 – 500 ммоль/л

Воспроизводимость (при 37 °C)

Внутрисерийная (число измерений n=20)	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	19,07	0,24	1,28
Образец 2	88,76	0,20	0,22
Образец 3	343,33	2,2	0,64
Межсерийная (число измерений n=10)	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	19,0	0,51	2,67
Образец 2	88,98	0,66	0,75
Образец 3	345,23	4,03	1,16

Точность

Аналитическое смещение B (bias) + 1,8% (53,2 ммоль/л)
+ 2,6% (48,7 ммоль/л)

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 99 пробах с использованием реагентов Erba Lachema Билирубин общий Liquid (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).

Результаты: y = 1,067x + 3,13 ммоль/л; r = 0,992

Специфичность/Влияющие вещества:

Результаты анализа могут быть занижены в гемолитических образцах, поэтому рекомендовано не использовать для анализа образцы с гемолизом.

Примечание

- Анализ необходимо проводить в защищенном от света месте. Окраска азобилирубина снижается на свету на 10% в течение 15 мин.
- Образцы с концентрацией общего билирубина выше 500 ммоль/л развести физиологическим раствором в соотношении 1:1. Полученный результат умножить на 2.
- При измерении образцов и стандартов (калибраторов) без бланка образца и бланка стандарта могут быть получены ложно завышенные результаты на 2–14 ммоль/л в зависимости от природы сывороток.

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.

Литература

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

Дата проведения последнего контроля: 20. 12. 2010

В случае любых вопросов обращайтесь в Представительство Erba Lachema s.r.o. в Москве. Тел/факс: 495-755 78 51, 495-755 55 80.

BILIRUBIN CELKOVÝ LIQUID 350 S (BIL T L 350 S)

Kat.č. 10008205

Skladovat (+2 až +8)°C

Souprava činidel pro stanovení celkového bilirubinu v séru a plazmě dle Jendrassik-Grófa v modifikaci vhodné pro použití na automatických analyzátoch.

Princip metody

Nekonjugovaný bilirubin se v přítomnosti akcelérátoru 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.

Činidla

R1 Činidlo 1 (Akcelérátor)	1x250 ml
Benzoan sodný	387 mmol/l
Chelaton 3	2,7 mmol/l
Kofein	192 mmol/l
Octan sodný	680 mmol/l

R2 Činidlo 2	1x90 ml
Kyselina chlorovodíková	≥ 170 mmol/l
Kyselina sulfanilová	29 mmol/l

R3 Činidlo 3	1x3 ml
Dusitan sodný	72,5 mmol/l

R4 Standard bilirubinu	(1 lahvička)
k přípravě roztoku $\bar{a}$ $\mu\text{mol/l}$	

R5 Albumin	(1 lahvička)
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 a stabilita pracovních roztoků

Je-li dodržena teplota skladování při (+2 až +8) °C, je souprava stabilní do data expirace, uvedeného na obale.

Činidla R1, R2 a R3 jsou kapalná a po otevření stabilní při (+2 až +25) °C do data expirace, uzavřená a chráněná před kontaminací.

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 až +8) °C v temnu

5 h při (+15 až +25) °C v temnu

Příprava a stabilita roztoků pro kalibraci viz. níže.

Vzorky

Nehemolytické sérum nebo plazma (heparin, EDTA), chráněné před světlem.

Stabilita bilirubinu ve vzorku je 7 dní při (+2 až +8) °C.

Kalibrace

Ke kalibraci se doporučuje souprava Lyonorm kalibrátor, kat.č. 10003200, nebo standard, který je součástí soupravy.

Kontrola kvality

Ke kontrole se doporučuje

Lyonorm HUM N, kat.č.10003204

Lyonorm HUM P, kat.č.10003206

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 A1 a absorbance vzorku A2 proti reagenčnímu blanku.			

Zbarvení je za nepřístupu světla stálé 30 minut.

Aplikace na automatické analyzátoch jsou dodávány na vyžádání.

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 $\bar{a}$ μmol bilirubinu/l. Při teplotě (+2 až +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 až +8) °C je roztok stálý nejméně 1 týden.

Příprava kalibračních roztoků

Roztok č.	Roztok bilirubinu $\bar{a}$ $\mu\text{mol/l}$ (ml)	Roztok albuminu (ml)	Výsledná koncentrace bilirubinu ($\mu\text{mol/l}$)
1	0,10	1,90	0,050 $\cdot \bar{a}$
2	0,25	1,75	0,125 $\cdot \bar{a}$
3	0,50	1,50	0,250 $\cdot \bar{a}$
4	0,75	1,25	0,375 $\cdot \bar{a}$
5	1,00	1,00	0,500 $\cdot \bar{a}$

$\bar{a}$ – 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 (A2 - A1) na obsahu bilirubinu v kalibračním roztoku v $\mu\text{mol/l}$.

Výpočet

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

Referenční hodnoty

fS bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)

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

Linearita:

do 500 $\mu\text{mol/l}$

Mez detekce:

0,31 $\mu\text{mol/l}$

Dolní mez stanovitelnosti:

0,93 $\mu\text{mol/l}$

Pracovní rozsah:

0,9 – 500 $\mu\text{mol/l}$

Přesnost (při 37 °C)

INTRA-ASSAY n = 20	Průměr ($\mu\text{mol/l}$)	SD ($\mu\text{mol/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	19,07	0,24	1,28
Vzorek 2	88,76	0,20	0,22
Vzorek 3	343,33	2,2	0,64
INTER-ASSAY n = 10	Průměr ($\mu\text{mol/l}$)	SD ($\mu\text{mol/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	19,0	0,51	2,67
Vzorek 2	88,98	0,66	0,75
Vzorek 3	345,23	4,03	1,16

Pravdivost

Bias: + 1,8% (53,2 $\mu\text{mol/l}$)

+ 2,6% (48,7 $\mu\text{mol/l}$)

Srovnání: s komerčně dostupnou metodou. Lineární regrese:

N = 99, r = 0,992, y = 1,067 x + 3,13 $\mu\text{mol/l}$

Interference:

Následující analyty neinterferují:

Hemoglobin do 10 g/l, triglyceridy do 40 mmol/l.

Poznámka

- Při stanovení na analyzátoch 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 až +25 °C.
- Vzorky s koncentrací bilirubinu nad 500 $\mu\text{mol/l}$ se ředí 1+1 0,9% roztokem NaCl a výsledek se násobí 2x.
- 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 $\mu\text{mol/l}$.

Bezpečnostní charakteristiky

Účinná pro in vitro diagnostické použití oprávněnou a profesionálně vyškolenou osobou. Činidla soupravy nejsou klasifikována jako nebezpečná.

První pomoc

Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při vniknutí do oka provést rychlé a důkladné vyplach 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 potenciálně 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).

Literatura

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

Datum poslední revize: 20. 12. 2010