

BILIRUBIN (CELKOVÝ A PŘÍMÝ)		BILIRUBIN (CELKOVÝ)		BILIRUBIN (PŘÍMÝ)	
KÓD 11515 2 x 50 + 2 x 50 ml	KÓD 11555 500 + 500 ml	KÓD 11510 4 x 50 ml	KÓD 11544 2 x 500 ml	KÓD 11511 4 x 50 ml	KÓD 11545 2 x 500 ml
SKLADOVÁNÍ PŘI 15-30°C					
Reagenty pro měření koncentrace bilirubinu Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku					



BILIRUBIN (CELKOVÝ A PŘÍMÝ)
BILIRUBIN (CELKOVÝ) BILIRUBIN (PŘÍMÝ)



DIAZOTOVANÁ KYSELINA SULFANILOVÁ

PRINCIP METODY

Přímý bilirubin ve vzorku reaguje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou za vzniku barevného komplexu, který se měří spektrofotometricky. Oba - přímý (konjugovaný) i nepřímý (nekonjugovaný) bilirubin reagují s diazo-sloučeninou v přítomnosti cetrimidu^{1,2}. Označení "přímý" a "celkový" se vztahuje k reakčním vlastnostem sérového bilirubinu za přítomnosti nebo absence rozpouštěcích (akceleračních) reagentů a přibližně odpovídají konjugovaným a nekonjugovaným frakcím.

OBSAH

	Reagent AT	Reagent AD	Reagent BT	Reagent BD
KÓD 11515	2 x 40 ml	2 x 40 ml	2 x 10 ml	2 x 10 ml
KÓD 11555	400 ml	400 ml	1 x 100 ml	1 x 100 ml
KÓD 11510	4 x 40 ml	-	4 x 10 ml	-
KÓD 11544	2 x 400 ml	-	2 x 100 ml	-
KÓD 11511	-	4 x 40 ml	-	4 x 10 ml
KÓD 11545	-	2 x 400 ml	-	2 x 100 ml

SLOŽENÍ

Bilirubin celkový (BT)

AT Reagent. Kyselina sulfanilová 29 mmol/l, kys. chlorovodíková 0,2 mol/l, cetrimid 50 mmol/l.

Nebezpečí : H314 - Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. **P280** - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. **P303 + P361 + P353** - PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.

BT Reagent. Dusitan sodný 11,6 mmol/l.

Bilirubin přímý (BD)

AD. Reagent. Kyselina sulfanilová 35 mmol/l, kys. chlorovodíková 0,24 mol/l.

Nebezpečí : H314 - Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. **P280** - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. **P303 + P361 + P353** - PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.

BD Reagent. Dusitan sodný 3,5 mmol/l.

Pro další varování a upozornění - viz Karta bezpečnostních údajů (SDS).

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 15-30°C. Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku pokud jsou těsně uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci během jejich použití.

Známky zhoršení kvality:

Reagenty: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 0,05 při 540 nm (v 1 cm kyvetě).

DOPLŇUJÍCÍ REAGENCIE

S. Bilirubin standard (kód 11 513). Obsah lahvičky rozpustíte v 5,0 ml destilované vody (Poznámka 1). Koncentrace bilirubinu je uvedena na etiketě lahvičky. Jeho koncentrace byla ověřena proti Standardnímu Referenčnímu Materiálu 916a (National Institute of Standards and Technology, USA). Zabraňte přístupu světla na rozpuštěný standard. Roztok je stabilní 4 hodiny při 15-30°C, nebo 2 měsíce při zamražení alikvotních částí na teplotu -18°C.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Pracovní reagent: Kvantitativně přelejte obsah lahvičky BT do lahvičky AT pro stanovení celkového bilirubinu, nebo obsah lahvičky BD do lahvičky AD pro stanovení přímého bilirubinu (Poznámka 2). Důkladně promíchejte. Ostatní objemy lze připravit smícháním: 1 ml Reagentu BT + 4 ml Reagentu AT, nebo Reagentu BD + 4 ml Reagentu AD. Stabilita pracovních roztoků je 20 dní při 2-8°C.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Analyzátor, spektrofotometr, nebo fotometr termostabilní při 37°C a s filtrem 540 nm ± 20 nm.
- Kyveta s 1 cm světelnou délkou (jestliže při výpočtu používáte faktor)

VZORKY

Sérum odebrané standardním způsobem. Bilirubin je stabilní 2 dny při 2-8°C, když byl vzorek skladován ve tmě.

POSTUP PRO CELKOVÝ BILIRUBIN

1. Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 1, 3)

	Reagent Blank	Blank vzorku	Vzorek	Standard
Destilovaná voda	100 µl	-	-	-
Vzorek	-	100 µl	100 µl	-
Standard (S)	-	-	-	100 µl
Reagent (AT)	-	1,0 ml	-	-
Pracovní Reagent	1,0 ml	-	1,0 ml	1,0 ml

- Promíchejte a nechejte stát 2 minuty při pokojové teplotě.
- Odečtěte absorbanci (A) vzorku blanku při 540 nm proti destilované vodě.
- Odečtěte absorbanci (A) vzorku a standardu při 540 nm proti reagent blanku.

POSTUP PRO PŘÍMÝ BILIRUBIN

1. Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 1, 3).

	Reagent Blank	Blank vzorku	Vzorek
Destilovaná voda	100 µL	-	-
Vzorek	-	100 µL	100 µL
Reagent (AD)	-	1,0 ml	-
Pracovní Reagent	1,0 ml	-	1,0 ml

- Promíchejte a nechejte stát přesně 5 minut při 37°C.
- Odečtěte absorbanci (A) vzorku blanku při 540 nm proti destilované vodě.
- Odečtěte absorbanci (A) vzorku a standardu při 540 nm proti reagent blanku.

VÝPOČET

Koncentrace bilirubinu ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A_{\text{Vzorku}} - A_{\text{Blanku vzorku}}}{A_{\text{Standardu}}} \times C_{\text{Standardu}} = C_{\text{Vzorku}}$$

Při výpočtu přímého bilirubinu použijte absorbanci standardu získanou při měření celkového bilirubinu. Jestliže jste pro odečítání použili 1 cm kyvetu, aplikujte následující faktor (Poznámka 4):

Objemová koncentrace(mg/dl) x 17,1 = látková koncentrace (µmol/L).

REFERENČNÍ HODNOTY

Dospělí³:

Celkový:	do 1.0 mg/dl = 17 µmol/l
Přímý:	do 0.2 mg/dl = 3,4 µmol/l

BILIRUBIN (CELKOVÝ A PŘÍMÝ)		BILIRUBIN (CELKOVÝ)		BILIRUBIN (PŘÍMÝ)	
KÓD	KÓD	KÓD	KÓD	KÓD	KÓD
11515	11555	11510	11544	11511	11545
2 x 50 + 2 x 50 ml	500 + 500 ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml
SKLADOVÁNÍ PŘI 15-30°C					
Reagenty pro měření koncentrace bilirubinu Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku					



BILIRUBIN (CELKOVÝ A PŘÍMÝ)
BILIRUBIN (CELKOVÝ) BILIRUBIN (PŘÍMÝ)



DIAZOTOVANÁ KYSELINA SULFANILOVÁ

nebo cirhoza) nebo intrahepatická či extrahepatická cholestáza. Žloutenka je klinický projev hyperbilirubinemie spočívající v ukládání

Novorozenci³ (celkový bilirubin) :

Věk	Předčasně narození	V termínu
Do 24 h	1,0-8,0 mg/dl = 17-137 μmol/l	2,0-6,0 mg/dl = 34-103 μmol/l
Do 48 h	6,0-12,0 mg/dl = 103-205 μmol/l	6,0-10 mg/dl = 103-171 μmol/l
3-5 dní	10-14 mg/dl = 171-239 μmol/l	4,0-8,0 mg/dl = 68-137 μmol/l

Tyto hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní referenční hodnoty.

KONTROLA KVALITY

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít Assayed Control Serum hladina I (kód. 18005, 18009 a 18042) a hladiny II (kód. 18007, 18010 a 18043).

Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit (Celkový bilirubin): 0,03 mg/dl = 0,51 μmol/l
- Detekční limit (Přímý bilirubin): 0,02 mg/dl = 0,34 μmol/l
- Linearita: 20 mg/dl = 343 μmol/l. Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/3

destilovanou vodou a opakujte měření.

- Opakovatelnost (within run):

Celkový bilirubin	CV	n	Přímý bilirubin	CV	n
0,59 mg/dl = 10,1 μmol/l	3,0%	2	0,77 mg/dl = 13,2 μmol/l	1,2%	20
6,74 mg/d l = 115,2 μmol/l	1,0%	2	1,36 mg/dl = 23,2 μmol/L	0,5 %	20

Reprodukovatelnost (run to run):

Celkový bilirubin	CV	n	Přímý bilirubin	CV	n
0,59 mg/dl = 10,1 μmol/l	3,6 %	2	0,77 mg/dl = 13,2 μmol/L	2,3 %	25
6,74 mg/d l = 115,2 μmol/l	3,3 %	2	1,36 mg/dl = 23,2 μmol/L	0,9 %	25

- Citlivost (celkový bilirubin): 88 mA·dl/mg = 5,15 mA·l/μmol

- Citlivost (přímý bilirubin): 100 mA·dl/mg = 5,85 mA·l/μmol

- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. (Poznámka 4).

Porovnávací zkoušky jsou k dispozici na vyžádání.

- Interference: Hemoglobin (10 g/l) neinterferuje. Lipemie (triglyceridy > 15 g/l) mohou interferovat. Některé léky a látky mohou interferovat⁴.

Tyto metrologické charakteristiky byly získány na analyzátoru. Výsledky se mohou lišit při použití různých analyzátorů, nebo při manuální metodě.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Bilirubin je odpadním produktem získaným z hemové části hemoglobinu uvolněné ze stárnoucích nebo poškozených erytrocytů, které jsou odstraňovány v retikuloendoteliálních buňkách. Poté je bilirubin transportován do jater v přítomnosti albuminu. Uvnitř hepatocytů je bilirubin konjugován s glukoronidovou kyselinou a vylučuje se do žluče. Množství dědičných a získaných onemocnění ovlivňuje jeho produkci, absorpci, metabolismus a vylučování, výsledkem je hyperbilirubinemie^{3,5}. Nekonjugovaná hyperbilirubinemie se nachází u novorozenců (fyziologická - novorozenecká žloutenka), u zvyšené destrukce červených krvinek (hemolytická anemie, rozsáhlé hematomy), u neúčinné tvorbě červených krvinek a u některých vzácných genetických onemocněních (Gilbertův syndrom, Crigler-Najjarův syndrom). Konjugovaná hyperbilirubinemie se nachází u sníženého vylučování žluče z důvodu onemocnění jater (hepatitida

žlučového pigmentu do kůže. Výsledkem je žlutavé zbarvení kůže a mukózních membrán. Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKY

1. Při stanovení bilirubinu u novorozenců rekonstituujte standard s 1,0 ml destilované vody. Koncentraci standardu získáte vynásobením koncentrace uvedené na etiketě lahvičky číslem 5. Snižte objem vzorku (vody, standardu, séra) na 50 μL a použijte koncentrovány

standard. Linearita je v tomto případě dvojnásobná (do 40 mg/dl = 686 μmol/l).

2. Pro kvantitativní převedení obsahu lahvičky B se doporučuje její opakované promytí malým množstvím již připraveného pracovního reagentu.
3. Tento reagent může být použit v různých analyzátoch. Aplikační protokoly jsou k dispozici u distributora
4. Kalibrace prováděná s vodným standardem může způsobit vychýlení (bias) a to speciálně na některých analyzátoch. Pro tyto případy se doporučuje provádět kalibraci za použití sérového standardu. (Kalibrační serum, kód. 18011 a 18044).

LITERATURA

1. Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
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 1976; 1:343-359.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 2005.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 25.5.2015.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letáčkem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems-sa.com.

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava, tel.: + 421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a . LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informační centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166

VÝROBCE

BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (Spain)
ISO 13485 - TÜV Rheinland - Reg.: SX 60010383 0001
ISO 9001 - TÜV CERT - Reg.: 01 100 6696