

Bilirubin (celkový a přímý)		Bilirubin (celkový)		Bilirubin (přímý)	
Kód 11515	Kód 11555	Kód 11510	Kód 11544	Kód 11511	Kód 11545
2 x 50 + 2 x 50 ml	500+ 500ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml
SKLADOVAT PŘI 2-30 °C					
Reagencie pro stanovení koncentrace bilirubinu. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.					





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

BILIRUBIN
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 diazosloučeninou v přítomnosti cetrimidu^{1,2}. Označení „přímý“ a „celkový“ se vztahují k reakčním vlastnostem sérového bilirubinu za přítomnosti, nebo absence solubilizčních (urychlujících) reagentů. „Přímý“ a „nepřímý“ bilirubin jsou pouze přibližně ekvivalentní konjugovaným a nekonjugovaným frakcím.

OBSAH

Reagencie AT Reagencie AD Reagencie BT Reagencie 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)

AT. Reagencie. 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: Požívejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303+P361+P353: PŘI STYKU S KÚŽÍ /nebo vlasy/ochlupením: Veškeré kontaminované oblečení okamžitě svlékněte. Opláchněte pokožku vodou/sprchou.

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

BILIRUBIN (PŘÍMÝ)

AD. Reagencie. Kyselina sulfanilová 35 mmol/l, kyselina chlorovodíková 0,24 mol/l.

NEBEZPEČÍ: H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

P280: Požívejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303+P361+P353: PŘI STYKU S KÚŽÍ /nebo vlasy/ochlupením: Veškeré kontaminované oblečení okamžitě svlékněte. Opláchněte pokožku vodou/sprchou.

BD. Reagencie. Dusitan sodný 3,5 mmol/l.

Další varování a bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu produktu (SDS).

SKLADOVÁNÍ

Skládujte při 2-30 °C.

Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku, pokud jsou skladovány těsně uzavřené a pokud je během jejich použití zabráněno jejich kontaminaci.

Známky zhoršení kvality:

- Reagencie: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku nad 0,09 při 540 nm (1 cm kyveta).

POMOCNÉ REAGENCIE

S. Bilirubin standard (kód 11513). Obsah lahvičky rozpustíte v 5,0 ml destilované vody (Poznámka 1). Koncentrace bilirubinu je uvedena na etiketě lahvičky. Hodnota koncentrace je návazná na Standardní Referenční Materiál 916a (National Institute of Standards and Technology, USA). Chraňte rozpuštěný standard před světlem. Roztok je stabilní 4 hodiny při 15-30 °C, nebo 2 měsíce při -18 °C při zmrazení v alikvotech.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

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

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- 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 v séru je stabilní 7 dní při 2-8 °C, jestliže je sérum chráněno před světlem.³

POSTUP PRO CELKOVÝ BILIRUBIN

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

	Reagencie Blank	Vzorek blank	Vzorek	Standard
Destilovaná voda	100 µl	-	-	-
Vzorek	-	100 µl	100 µl	-
Standard (S)	-	-	-	100 µl
Reagencie (AT)	-	1,0 ml	-	-
Pracovní reagencie	1,0 ml	-	1,0 ml	1,0 ml

2. Důkladně promíchejte a nechte zkumavky stát 2 minuty při pokojové teplotě.
3. Odečtěte absorbanci (A) vzorku blanku při 540 nm proti destilované vodě.
4. Odečtěte absorbanci (A) vzorku a standardu při 540 nm proti reagentní blanku.

POSTUP PRO PŘÍMÝ BILIRUBIN

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

	Reagencie blank	Vzorek blank	Vzorek
Destilovaná voda	100 µL	-	-
Vzorek	-	100 µL	100 µL
Reagencie (AD)	-	1,0 ml	-
Pracovní reagencie	1,0 ml	-	1,0 ml

2. Důkladně promíchejte a nechte zkumavky stát po dobu přesně 5 minut při 37 °C.
3. Odečtěte absorbanci (A) vzorku blanku při 540 nm proti destilované vodě.
4. Odečtěte absorbanci (A) vzorku při 540 nm proti reagentní 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 (Poznámka 4).
 Hmotnostní koncentrace (mg/dl) x 17,1 = koncentrace látky (µmol/L).

Bilirubin (celkový a přímý)		Bilirubin (celkový)		Bilirubin (přímý)	
Kód 11515	Kód 11555	Kód 11510	Kód 11544	Kód 11511	Kód 11545
2 x 50 + 2 x 50 ml	500+ 500ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml
SKLADOVAT PŘI 2-30 °C					
Reagencie pro stanovení koncentrace bilirubinu. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.					



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

BILIRUBIN
Diazotovaná kyselina sulfanilová

REFERENČNÍ HODNOTY

Dospělí:

Celkový ⁴ :	do 2,0 mg/dl = 34 µmol/l
Přímý ⁵ :	do 0,3 mg/dl = 5 µmol/l

Novorozenci⁴ (celkový bilirubin):

Věk	předčasně narození	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 rozsahy jsou pouze orientační; každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005, 18009 a 18042) a hladiny II (kód 18007, 18010 a 18043) pro verifikaci laboratorního měření.

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

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit (Celkový bilirubin): 0.003 mg/dl = 0.05 µmol/L
- Detekční limit (Přímý bilirubin): 0.02 mg/dl = 0.34 µmol/L
- Limit linearity: 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	20	0,77 mg/dl = 13,2 µmol/l	1,2	20
6,74 mg/dl = 115,2 µmol/l	1,0	20	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	25	0,77 mg/dl = 13,2 µmol/l	2,3	25
6,74 mg/dl = 115,2 µmol/l	3,3	25	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
- Pravdivost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty.
- (Poznámka 4). Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Interference: Hemoglobin (10 g/L) neinterferuje. Lipemie (triglyceridy > 15 g/L) mohou interferovat. Jiné léky a látky mohou interferovat⁶.

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

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Bilirubin je odpadní produkt odvozený z hemové části hemoglobinu uvolněného ze stárnoucích nebo poškozených erytrocytů, které jsou zničeny v retikuloendoteliálních buňkách. Po produkci je bilirubin transportován do jater ve spojení s albuminem. Uvnitř hepatocytů je bilirubin konjugován s kyselinou glukoronidovou a vylučuje se do žluče. Řada dědičných a získaných onemocnění ovlivňuje jeho produkci, absorpci, metabolismus a vylučování, výsledkem je hyperbilirubinémie^{4,7}. Nekonjugovaná hyperbilirubinémie se nachází u novorozenců (fyziologická – novorozenecká žloutenka), u zvýšené destrukce

červených krvinek (hemolytická anémie, rozsáhlé hematomy), u neúčinné tvorby červených krvinek a u některých vzácných genetických onemocnění (Gilbertův syndrom, Crigler-Najjarův syndrom). Konjugovaná hyperbilirubinémie se spojuje se sníženým vylučováním žluče v důsledku onemocnění jater (hepatitida nebo cirhóza), nebo s intrahepatální či extrahepatální cholestázou.

Žloutenka je klinický projev hyperbilirubinémie, spočívající v ukládání žlučových pigmentů v kůži, což má za následek nažloutlé zbarvení kůže a sliznic.

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. Koncentrace standardu bude koncentrace uvedená na štítku lahvičky vynásobená 5. Snižte objem vzorku (vody, standardu, séra) na 50 µL a použijte koncentrovaný standard. Linearita je v tomto případě dvojnásobná (do 40 mg/dl = 686 µmol/l).
2. Lahvičku s reagentem B je vhodné umýt malým množstvím připravené směsi, aby se lahvička úplně vypláchla a předešlo se ztrátám.
3. Tyto reagenty mohou být použity v různých automatických analyzátoch. Návod k mnoha z nich je k dispozici na vyžádání.
4. Kalibrace s dodaným vodním standardem může způsobit zkreslení související s matricí, zvláště u některých analyzátorů. V těchto případech je doporučeno kalibrovat pomocí sérového standardu (biochemický kalibrátor 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. World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
5. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th ed. Saunders Elsevier, 2001:1427
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

Bilirubin (celkový a přímý)		Bilirubin (celkový)		Bilirubin (přímý)	
Kód 11515	Kód 11555	Kód 11510	Kód 11544	Kód 11511	Kód 11545
2 x 50 + 2 x 50 ml	500+ 500ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml	4 x 50 ml	2 x 500 ml
SKLADOVAT PŘI 2-30 °C					
Reagencie pro stanovení koncentrace bilirubinu. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.					





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

BILIRUBIN
Diazotovaná kyselina sulfanilová

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 10.4. 2025

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

Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://einfo.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760, paha@jktrading.cz

SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,
tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk

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 informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166