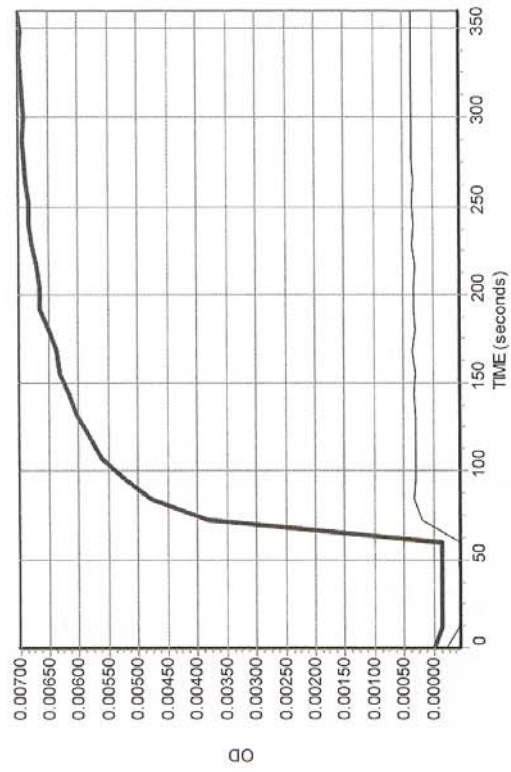


| Sampling Date       | Test   | Context |
|---------------------|--------|---------|
| 02/15/2006 10:48:25 | Bill-T | 30.01   |

| Level Reagent Blank | Flag | Unit  |
|---------------------|------|-------|
| Report<br>0.00078   |      | Delta |

| Report   | QF | Flag | Dec. Unit           |
|----------|----|------|---------------------|
| 18.60031 |    |      | A $\mu\text{mol/L}$ |



Vedlegg 1

Vedlegg 2

ABX Pentra

Bilirubin, Total CP

Diagnosticeringsreagens til kvantitativ *in-vitro*-bestemmelse af total bilirubin i serum eller plasma.

2005/03/15  
A93A00112F DA

REF A11A01639

REAGENT 1 42 ml

REAGENT 2 12 ml



IVD CE



HORIBA ABX  
BP 7290  
34184 Montpellier- cedex 4 - France

#### Klinisk interesse (1,2)

Bilirubin er et nedbrydningsprodukt af hæmoglobin. Frit, ukonjugeret bilirubin er særdeles apolært og næsten uopløseligt i vand, og danner derfor et kompleks med albumin og transporteres i blodet fra milten til leveren. I leveren konjugeres bilirubin med glukuronsyre. Resultatet er vandopløselige bilirubin-glukoronider, som udskilles via galdekanalerne.

Hyperbilirubinæmi kan forårsages af en forøget produktion af bilirubin pga. hæmolyse (præ-hepatisk gulsot), parenkymatøse leverskader (intra-hepatisk gulsot) eller obstruktion af galdevejene (post-hepatisk gulsot). Gilberts syndrom er en kronisk medfødt tilstand med hyperbilirubinæmi (overvejende ukonjugeret), der er ret almindelig. Høje niveauer af total bilirubin observeres hos 60-70% af nyfødte pga. en øget nedbrydning af røde blodlegemer efter fødslen og pga. forsinket virkning af bilirubinnedbrydende enzymer. Normale bilirubinmetoder påviser enten total bilirubin eller direkte bilirubin. Ved bestemmelser af direkte bilirubin måles hovedsageligt konjugeret, vandopløselig bilirubin. Ukonjugeret bilirubin kan derfor beregnes som forskellen mellem total bilirubin og direkte bilirubin.

#### Metode

Fotometrisk test med 2,4-dichloranilin (DCA).

I et surt miljø danner direkte bilirubin i forbindelse med diazoteret 2,4-dichloranilin en rødlig azoforbindelse. En særlig blanding af detergenter muliggør en sikker bestemmelse af total bilirubin.

#### Reagenser

ABX Pentra Bilirubin, Total CP er brugsklart.

|                   |                                 |            |
|-------------------|---------------------------------|------------|
| <b>Reagens 1:</b> | Phosphatbuffer                  | 50 mmol/l  |
|                   | NaCl                            | 9 g/l      |
|                   | Detergent, stabilisatorer       |            |
| <b>Reagens 2:</b> | 2,4-dichlorphenyl-diazoniumsalt | 5 mmol/l   |
|                   | HCl                             | 130 mmol/l |
|                   | Detergent                       |            |

ABX Pentra Bilirubin, Total CP skal anvendes i henhold til denne reagensvejledning. HORIBA ABX kan ikke garantere for reagensets ydeevne, hvis det anvendes på anden vis.

#### Anvendelse

Tag begge hæfter af kassetten, og stil den i det afkølede ABX Pentra 400-reagensrum.

Fjern eventuelt skum med en plastikpipette.

#### Kalibrator

Til kalibrering skal følgende anvendes:

ABX Pentra MultiCal, ref. A11A01652 (medfølger ikke)  
10 x 3 ml (lyofiliseret)

#### Kontrol

Til intern kvalitetskontrol skal følgende anvendes:

ABX Pentra N Control, ref. A11A01653 (medfølger ikke)  
10 x 5 ml (lyofiliseret)  
ABX Pentra P Control, ref. A11A01654 (medfølger ikke)  
10 x 5 ml (lyofiliseret)

Begge kontroller skal analyseres dagligt og/eller efter hver kalibrering. Kontrollernes hyppighed og konfidensintervallerne bør være i overensstemmelse med laboratoriets retningslinjer og landspecifikke regulativer. Resultaterne skal ligge inden for de fastlagte konfidensgrænser. Hvert laboratorium bør fastlægge retningslinjer for, hvad der bør gøres, såfremt resultaterne overskrider disse konfidensgrænser.

#### Påkrævede, men ikke medfølgende materialer

- Automatiseret biokemisk analysator
- Standard laboratorieudstyr.

#### Prøve

- Serum.
- Heparinplasma.

Det er meget vigtigt, at prøven beskyttes mod lys under opbevaring.

Stabilitet: 1 dag ved 15-25 °C  
7 dage ved 2-8 °C  
3 måneder ved -20 °C ved omgående nedfrysning.

Må kun nedfryses én gang.

Form-Q846 Rev. 1

S.A. au capital de 44.000.000 € - RCS Montpellier 328 031 042 - SIRET 328 031 042 000 42 - APE 332 B

Den seneste version af dokumenterne findes på [www.horiba-abx.com](http://www.horiba-abx.com)

Explore the future

HORIBA GROUP

## ABX Pentra

### Bilirubin, Total CP

#### Referenceværdier (1)

|                         | [mg/dl]    | [μmol/l]  |
|-------------------------|------------|-----------|
| <b>Nyfødt:</b> 24 timer | < 8,8      | < 150     |
| 2. dag                  | 1,3 - 11,3 | 22 - 193  |
| 3. dag                  | 0,7 - 12,7 | 12 - 217  |
| 4. - 6. dag             | 0,1 - 12,6 | 1,7 - 216 |
| <b>Børn:</b> > 1 måned  | 0,2 - 1,0  | 3,4 - 17  |
| <b>Voksne:</b>          | 0,1 - 1,2  | 1,7 - 21  |

#### Opbevaring og stabilitet

I uåbnede kassetter er reagenser stabile indtil udløbsdatoen, der er anført på etiketten, hvis de opbevares ved 2-8 °C, beskyttes mod lys, og kontaminering undgås.  
Stabilitet efter åbning: Se afsnittet "Ydeevne på ABX Pentra 400".  
Reagenserne må ikke nedfryses.

#### Procedure

Testvejledning til andre automatiserede systemer end ABX Pentra 400 kan rekvireres.

#### Affaldshåndtering

Der henvises til lokale lovbestemmelser.

#### Generelle forholdsregler

1. Dette reagens er kun beregnet til professionel *in-vitro*-diagnosticering.
2. Tag de nødvendige forholdsregler, der er gældende ved brug af laboratoriereagenser.
3. Reagenskassetterne er beregnet til engangsbrug og skal kasseres i overensstemmelse med lokale lovbestemmelser.
4. Se venligst det MSDS (datasikkerhedsblad), der hører til reagenset.

#### Ydeevne på ABX Pentra 400

De nedenstående data for ydeevner opnået på ABX Pentra 400-analyseapparatet.

**Antal test:** 200 test

#### Reagensstabilitet på instrumentet:

Efter åbning er reagenskassetten stabil i 25 dage, hvis den placeres i det afkølede ABX Pentra 400-rum.

**Provevolumen:** 5 μl/test

#### Detektionsgrænse:

Detektionsgrænsen er bestemt i henhold til Valtec-protokollen (4) og svarer til 3,4 μmol/l.

#### Nøjagtighed og præcision:

- Repeterbarhed (præcision ved intraseriel kørsel)  
3 prøver af lav, medium og høj koncentration og 2 kontroller er testet 20 gange i henhold til anbefalingerne i Valtec-protokollen (4).

|                    | Middelværdi mmol/l | CV % |
|--------------------|--------------------|------|
| Normal kontrol     | 16,57              | 1,77 |
| Patologisk kontrol | 91,43              | 0,66 |
| Prøve 1            | 15,48              | 2,51 |
| Prøve 2            | 55,62              | 0,90 |
| Prøve 3            | 149,28             | 0,60 |

#### • Reproducerbarhed (præcision ved interseriel kørsel)

2 prøver med lave og høje niveauer og 2 kontroller er testet med dobbeltbestemmelse over 20 dage (2 serier pr. dag) i henhold til anbefalingerne i NCCLS, EP5-A-protokollen (5).

|                    | Middelværdi mmol/l | CV % |
|--------------------|--------------------|------|
| Normal kontrol     | 17,8               | 3,35 |
| Patologisk kontrol | 73,5               | 1,98 |
| Prøve 1            | 51,8               | 1,88 |
| Prøve 2            | 145,5              | 1,55 |

#### Linearitet og måleområde<sup>a</sup>:

Reagensets linearitet er bestemt i henhold til anbefalingerne i NCCLS, EP6-P-protokollen (6).

Lav linearitet: 3,4 μmol/l

Høj linearitet: 1186 μmol/l, med automatisk efterfortynding: 5930 μmol/l.

#### Korrelation:

100 patientprøver er korreleret til et tilsvarende referencereagens i henhold til anbefalingerne i NCCLS, EP9-A2-protokollen (7).

Ligningen for den opnåede allometriske linje er:

$$Y = 0,99 \times - 0,25 \text{ med en korrelationskoefficient } r^2 = 0,9996.$$

#### Interferenser:

Hæmoglobin: Ingen væsentlig påvirkning observeret op til 220 μmol/l

Triglycerider: Ingen væsentlig påvirkning observeret op til 7 mmol/l

#### Kalibreringsstabilitet:

Reagenset er kalibreret på dag 0. Kalibreringsstabilitet er kontrolleret ved at teste 2 kontrolprøver.

Kalibreringsstabilitet er mindst 10 dage.

*Bemærk: Det anbefales at foretage en rekalkibrering, når der skiftes reagenslot, og når resultaterne af kvalitetskontrollen falder uden for det fastlagte interval.*

#### Omdannelse faktor:

$$\mu\text{mol/l} \times 0,584 = \text{mg/l}$$

$$\mu\text{mol/l} \times 0,0584 = \text{mg/dl}$$

a. Ændring af indeks E til F: ny Høj linearitet.

Vedlegg 4

## Pentra 400 Application

|           |                 |                                            |    |             |                  |
|-----------|-----------------|--------------------------------------------|----|-------------|------------------|
| Test Name | Total Bilirubin | Channel                                    | 14 | Code        | Bili-T           |
| Release   | 5.01            | <input checked="" type="checkbox"/> Enable |    | Modified on | 30/08/2005 10:33 |

### General Parameters

#### Characteristics

Sample Type Serum / Plasma  
Number of Reagents Reagent 2

#### Reagent

Reagent Short Name TBIL  
Reagent Number 12  
On Board Stability (days) 25

☒ Cassette



#### ☐ Pre-dilution

Diluent Name --  
Factor --  
Incubation time (in cycles) --

#### ☒ Linearity (µmol/L)

Low Limit 3.40000  
High Limit 1186.00000

#### Correlation

Slope 1.00000  
Intercept 0.00000

#### Automatic Rerun

☒ Post Dilution 5.0  
☐ Post Concentration --

#### ☐ Delta Check

Delta Check Validity Absolute Variation Relative Variation  
-- -- --

#### Result

Unit µmol/L  
Decimal Position 5  
☐ Manual Patient Validation

#### Reference Range (µmol/L)

|                                                | Man / Default | Woman | Child |
|------------------------------------------------|---------------|-------|-------|
| <input type="checkbox"/> Low Check             | --            | --    | --    |
| <input checked="" type="checkbox"/> High Check | 21.00000      | --    | --    |

Vedlegg 5

## Pentra 400 Application

|           |                 |                                            |    |             |                  |
|-----------|-----------------|--------------------------------------------|----|-------------|------------------|
| Test Name | Total Bilirubin | Channel                                    | 14 | Code        | Bili-T           |
| Release   | 5.01            | <input checked="" type="checkbox"/> Enable |    | Modified on | 30/08/2005 10:33 |

### Calibration Parameters

|                                       |                    |          |          |                                                                          |          |
|---------------------------------------|--------------------|----------|----------|--------------------------------------------------------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> Pre-dilution |                    |          |          | <b>Checks</b>                                                            |          |
| Type                                  | Calibrator Diluent |          |          | <input checked="" type="checkbox"/> Reagent Limit Absorbance Check       |          |
| -                                     | -                  |          |          | Reagent Range Low                                                        | -0.02890 |
| Factor 1                              | Factor 2           | Factor 3 | Factor 4 | Reagent Range High                                                       | 0.03110  |
| -                                     | -                  | -        | -        | <input checked="" type="checkbox"/> Reagent Blank Limit Absorbance Check |          |
| Factor 5                              | Factor 6           | Factor 7 | Factor 8 | Blank Range - Low Limit                                                  | -0.01370 |
| -                                     | -                  | -        | -        | Blank Range - High Limit                                                 | 0.01580  |

### Calibration

|                                                 |                     |                                                   |      |                                           |
|-------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------|------|-------------------------------------------|
| Calibration Mode                                | Slope average       | <b>Validity</b>                                   |      | <input type="checkbox"/> Control required |
| Level                                           | 1                   | <input type="checkbox"/> On Request               |      | Control Used                              |
| Calibration Factor                              | 2983.33300          | <input checked="" type="checkbox"/> Time Validity |      | -                                         |
| Run(s)                                          | 2                   | Interval                                          | 8    |                                           |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dev_Rep (%) | 5.0                 | Time Unit                                         | Days |                                           |
| <input type="checkbox"/> Dev_C (%)              | -                   |                                                   |      |                                           |
| Calibrator Used                                 | Abx Pentra Multical |                                                   |      |                                           |

### Analysis parameters

|                                  |                              |                        |                                                   |
|----------------------------------|------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Cleaner |                              | <b>Wavelength (nm)</b> | <b>Blank</b>                                      |
| Cleaner Solution                 | <input type="checkbox"/> H2O | Primary Wavelength     | <input checked="" type="checkbox"/> Reagent Blank |
| <input type="checkbox"/> Before  |                              | Secondary Wavelength   | Diluent                                           |
| <input type="checkbox"/> After   |                              |                        | H2O                                               |

### Analysis Sequence

| Cycle | Reagent Needle | Volume (µL) | Sample Needle | Volume (µL) | H2O Vol (µL) |
|-------|----------------|-------------|---------------|-------------|--------------|
| 1     | R1             | 200.0       | SAMPLE        | 5.0         | 20.0         |
| 6     | -              | -           | R2            | 50.0        | 20.0         |
| -     | -              | -           | -             | -           | -            |
| -     | -              | -           | -             | -           | -            |

**Mixing Speed**  
100

Vedlegg 6

## Pentra 400 Application

|           |                 |                                            |    |             |                  |
|-----------|-----------------|--------------------------------------------|----|-------------|------------------|
| Test Name | Total Bilirubin | Channel                                    | 14 | Code        | Bili-T           |
| Release   | 5.01            | <input checked="" type="checkbox"/> Enable |    | Modified on | 30/08/2005 10:33 |

### Calculation parameters

|                           |         |                                                              |          |                                                    |   |
|---------------------------|---------|--------------------------------------------------------------|----------|----------------------------------------------------|---|
| <b>Correlation Factor</b> |         | <b>Reaction Direction</b>                                    |          | <input type="checkbox"/> <b>Sample Limit Check</b> |   |
| Slope                     | 1.00000 | <input checked="" type="checkbox"/> Reaction Direction Check |          | Sample limit ( $\Delta$ O.D.)                      | - |
| Intercept                 | 0.00000 | Reaction Direction                                           | Increase | Sample Limit Cycle                                 | - |

### Definition

|                                                      |   |                      |                     |
|------------------------------------------------------|---|----------------------|---------------------|
| Calculation Type                                     |   | End Point            |                     |
| <input type="checkbox"/> <b>Reaction Limit Check</b> |   | <b>First Reading</b> | <b>Last Reading</b> |
| Reaction Limit Absorbance                            | - |                      |                     |
| Cycle                                                | - | Cycle                | 5                   |
|                                                      |   | Cycle                | 30                  |

### Units parameters

|                   |                            |                    |                            |
|-------------------|----------------------------|--------------------|----------------------------|
| <b>Unit:</b>      | <b>Conversion Factor :</b> | <b>Unit:</b>       | <b>Conversion Factor :</b> |
| $\mu\text{mol/L}$ | 1.000000                   | $\mu\text{mol/dL}$ | 0.100000                   |
| mg/L              | 0.585000                   | -                  | -                          |
| mg/dL             | 0.058500                   | -                  | -                          |

### ANALYSE: Bilirubin i serum

ABX Pentra CP, DCA metode

2006

## PLOT

DAG TIL DAG

KONTROLL:  
ABX Pentra N-Control

LOT.NR.: 164098

ENHET :  $\mu\text{mol/l}$ 

FAST M: 18,1

SD : 0,9

| VERDI | DATO |
|-------|------|
| 18,5  | 2/1  |
| 18,9  | 25/1 |
| 19,5  | 31/1 |
| 19,9  | 1/2  |
| 19,4  | 3/2  |
| 19,8  | 7/2  |
| 19,7  | 8/2  |
| 19,7  | 9/2  |
| 19,9  | 19/2 |
| 19,7  | 15/2 |
| 19,8  | 21/2 |

Grenseverdier  
16,3 - 19,9

### MÅNEDLIG BEREGNING

$$M =$$

SD =

$$\overline{CV} =$$

Vedlegg 8

# **METODE: AB/PAS**

Alcian Blue/Periodic Acid Schiff's

Metoden inneholder  
3 sider totalt

## **ANVENDELSES- OMRÅDE**

For påvisning av surt og/eller nøytralt slim som varierer i ulike organer og deler av organer, både normalt og ved sykdom.

## **PRINSIPP**

Alcian Blue ved ionebinding(kationfargestoff).  
PAS  
1. Oksidasjon av karbohydrater til aldehyder.  
2. Aldehyder påvises med Schiff's reagens.

## **LITTERATUR- REFERANSE**

1. Lyon.H.: Theory and Strategy in Histochemistry
2. Kiernan.H.J. Histological and Histochemical Methods
3. Bancroft & Stevens.Theory and practice of Histological Techniques
4. Conn. H.J.: Biological Stains

## **RESULTAT**

|                                   |              |
|-----------------------------------|--------------|
| Kjerner(Hematoxylin)              | – Blå        |
| Surt slim                         | – Blå/turkis |
| Nøytralt slim                     | – Magentarød |
| Blanding av surt og nøytralt slim | – fiolett    |
| basalmembran                      | magenta      |

## **KVALITETS-KONTROLL**

Schiff's reagens og periodsyre skal testes før bruk

## **Kontrollsnitt**

Snitt fra nyre: kontrollerer PAS reaksjon i vev

## **REAGENSER**

|                                       |                                               |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Alcian Blue</b>                    | C.I.74240                                     |
| Iseddik(Acetic Acid)                  | CH <sub>3</sub> COOH                          |
| Periodsyre                            | H <sub>5</sub> IO <sub>6</sub>                |
| <b>Basisk Fuchsin</b> (pararosanilin) | C.I.42500                                     |
| Saltsyre                              | HCl                                           |
| Natriumbisulfitt                      | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> |
| <b>Hematoxylin</b>                    | C.I.75290                                     |

Vedlegg 9

# TILLAGING AV REAGENSER

## **Alcian Blue , pH 2,5**

Lang holdbarhet, filtreres før bruk

|             |        |
|-------------|--------|
| Alcian Blue | 1 g    |
| 3% iseddik  | 100 ml |

## **Periodsyre, 1%**

*Usikker holdbarhet. Testes før bruk (se vedlegg)*

|             |       |
|-------------|-------|
| Periodsyre  | 1 g   |
| Dest. vann. | 99 ml |

## **Schiff's reagens**

*Lagres 4 °C, mørk flaske. Begrenset, usikker holdbarhet.*

*Schiff's reagens skal lukte svakt av svovel og ha en strågul farge. Se kvalitetskontroll PAS*

|                  |        |
|------------------|--------|
| Basisk Fuchsin   | 1 g    |
| Dest.vann        | 200 ml |
| 1 N HCl          | 20ml   |
| Natriumdisulfitt | 1 g    |

Varm opp vannet, tilsett Basisk Fuchsin og la dette koke opp. Bland.

Avkjøl til, 50 °C-nøyaktig! Filtrer.

Tilsett 20 ml 1 N HCl.

Avkjøl til 25 °C-nøyaktig!

Tilsett Natriumdisulfitt.

*La løsningen stå mørkt. Etter 12-48 timer forandres fargen til rød-lilla til orange/stråfarget og er klar til bruk.*

## **Hematoxylin (pH ca. 2)**

*Lang holdbarhet når den oppbevares på mørk flaske. Fargeløsning skal være dyp rødbrun (ikke blå)*

|                             |          |
|-----------------------------|----------|
| Hematoxylin                 | - 5 g    |
| Glycerol                    | - 200 ml |
| Iseddik                     | - 100 ml |
| Dest.vann                   | - 700 ml |
| Periodsyre                  | - 0,5 g  |
| Aluminiumsulfat (bindeledd) | - 50 g   |

Hematoxylin plasseres i en 2-liters kolbe og overhelles med glycerol, iseddik og litt av vannet. Ristes litt til alt er oppløst.

Tilsett periodsyre. Aluminiumsulfat løses i resten av vannet i en annen kolbe, bør være knust eller smågranulert for å løses lettere. Sett på magnetrører med litt varme.

Tilslutt slås de to løsningene sammen.

Det er ikke nødvendig, hverken med filtrering eller ytterligere oppvarming.

*Fargeløsningen kan benyttes med én gang.*

*Holdbar flere måneder på mørk flaske.*

**FREMGANGSMÅTE**

1. **Deparafinering**

2. **Rehydrering**

**AB/PAS**

3. **Alcian Blue**, 5 min

4. Rennende kaldt vann, 1 min

5. **1 % Periodsyre**, 5 min

6. Skylles i kaldt, rennende vann

7. **Schiff's reagens**, 15 min

8. Skylles i kaldt, rennende vann, 8 min

9. **Hematoxylin**, 2 min

10. Skylles i lunkent, rennende vann, 5 min

11. **Dehydrering**

12. **Klaring**

13. **Monteres** med innleiringsmiddel og dekkglass.

**KOMMENTARER:**