

REF A11A01635

REAGENT 1 24 mL

REAGENT 2 7 mL



IVD CE

HORIBA ABX SAS  
Parc Euromédecine  
Rue du Caducée  
BP 7290  
34184 Montpellier Cedex 4  
FRANCE

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## ■ Pentra C200

**Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* della bilirubina diretta in siero o in plasma mediante colorimetria.**

## Versione dell'applicazione

### Siero, plasma: DBIL

01.xx

## Uso previsto

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** è un reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* della bilirubina diretta in siero e plasma umano mediante un test fotometrico basato sull'utilizzo della 2,4-dicloroanilina (DCA). Le misurazioni dei livelli di bilirubina (diretta o totale), un composto organico che si forma durante la distruzione normale o patologica dei globuli rossi, vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento dei disturbi epatici, emolitici, ematologici e del metabolismo, incluse le epatiti e il blocco della vescichetta biliare.

## Interesse clinico (1, 2)

La bilirubina è un prodotto di degradazione dell'emoglobina. La bilirubina libera non coniugata è estremamente apolare ed essenzialmente non idrosolubile e forma pertanto un complesso con l'albumina per il trasporto nel sangue dalla milza al fegato. Nel fegato, la bilirubina viene coniugata con l'acido glucuronico: i risultanti glucuronidi coniugati con bilirubina idrosolubile vengono escreti tramite i dotti biliari.

L'iperbilirubinemia può essere causata da un aumento nella produzione di bilirubina dovuto a emolisi (ittero pre-epatico), da danni ai tessuti parenchimatici del fegato (ittero epatico) o dall'occlusione dei dotti biliari (ittero post-epatico). Un'iperbilirubinemia cronica congenita (prevalentemente non coniugata), conosciuta come sindrome di Gilbert, è piuttosto frequente nella

popolazione. Elevati livelli di bilirubina totale si osservano nel 60-70% dei neonati a causa di un aumento post-parto della degradazione degli eritrociti e a seguito di un ritardo nel funzionamento degli enzimi per la degradazione della bilirubina. I comuni metodi relativi alla bilirubina individuano la bilirubina totale o la bilirubina diretta. Le determinazioni della bilirubina diretta rilevano principalmente la bilirubina coniugata idrosolubile. È quindi possibile considerare la bilirubina non coniugata come la differenza tra la bilirubina totale e quella diretta.

## Metodo (3)

Test fotometrico mediante 2,4-dicloroanilina (DCA). In presenza di 2,4-dicloroanilina diazotata, la bilirubina diretta forma un composto azotato di colore rosso in soluzione acida.

## Reagenti

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** è pronto per l'uso.

### Reagente 1:

EDTA-Na <sub>2</sub>	0,1 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
Acido sulfamico	100 mmol/L

### Reagente 2:

Sale di diazonio di 2,4 diclorofenile	0,5 mmol/L
HCl	900 mmol/L
EDTA-Na <sub>2</sub>	0,13 mmol/L

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Manipolazione

1. Rimuovere entrambi i coperchi della cassetta.
2. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
3. Collocare la cassetta nel comparto reagenti refrigerato.

## Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

**ABX Pentra Multical** (A11A01652) (non incluso)  
10 x 3 mL (liofilizzato)

## Controllo <sup>a</sup>

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

- **ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414) (non incluso)  
10 x 5 mL (liofilizzato)
- **ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415) (non incluso)  
10 x 5 mL (liofilizzato)

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

## Materiali necessari non in dotazione <sup>a</sup>

- Analizzatore automatico di chimica clinica: Pentra C200
- Calibratore: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlli:  
**ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414)  
**ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

<sup>a</sup>Modifica: nuovo controllo.

## Campione

- Siero.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA Medical. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

## Stabilità (4):

- A 20-25°C: 2 giorni
- A 4-8°C: 7 giorni
- A -20°C: 6 mesi (in caso di congelamento immediato)

È estremamente importante conservare i campioni al riparo dalla luce.

In caso di forte esposizione ai raggi solari si osserva una diminuzione della bilirubina totale fino al 30% dopo 1 ora. Congelare una volta sola.

## Range di riferimento (1)

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

**Adulti e bambini:**  $\leq 0,2$  mg/dL ( $\leq 3,4$   $\mu$ mol/L).

## Conservazione e stabilità

### Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C.

### Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con Pentra C200".

Non congelare.

## Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Precauzioni di carattere generale

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Avvertenza**  
**H290:** Può essere corrosivo per i metalli.  
**P234:** Conservare soltanto nel contenitore originale.  
**P390:** Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.  
**P406:** Conservare in recipiente resistente alla corrosione provvisto di rivestimento interno resistente.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
- Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.

## Prestazioni con Pentra C200

### Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono stati ottenuti sull'analizzatore Pentra C200.

**Numero di analisi:** circa 119 analisi

### Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di Pentra C200 è stabile per 34 giorni.

**Volume del campione:** 15 µL/test

### Limite di quantizzazione

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A (5) ed equivale a 1,62 µmol/L (0,09 mg/dL).

### Accuratezza e precisione

#### Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (6) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi/medi/alti)

	Valore medio µmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo	13,41	0,78	1,77
Campione di controllo	35,89	2,10	2,61
Campione 1	17,78	1,04	0,95
Campione 2	55,61	3,25	0,94
Campione 3	152,23	8,91	0,29

## Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2(7) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi/medi/alti)

	Valore medio µmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo	11,57	0,68	2,32
Campione di controllo	38,83	2,27	2,12
Campione 1	18,11	1,06	2,60
Campione 2	53,59	3,13	3,00
Campione 3	95,79	5,60	2,44

## Intervallo di misurazione

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 1,62 µmol/L (0,09 mg/dL) e 116 µmol/L (6,79 mg/dL).

Con la post-diluizione automatica, l'intervallo di misurazione viene esteso fino a 580 µmol/L (33,9 mg/dL). La linearità del reagente è stata determinata fino a 116 µmol/L (6,79 mg/dL) in base alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP6-A (8).

## Correlazione

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 106

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP9-A2 (9).

I valori presentano variazioni comprese tra 3,36 µmol/L (0,20 mg/dL) e 106,86 µmol/L (6,25 mg/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (10):

$$Y = 0,99 X + 0,78 \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

$$Y = 0,99 X + 0,04 \text{ (mg/dL)}$$

con coefficiente di correlazione  $r^2 = 0,9945$ .

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Interferenze

Emoglobina: Non utilizzare campioni emolizzati.

Trigliceridi: Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di Intralipid® (rappresentativo della lipemia) di 7 mmol/L (612,5 mg/dL).

*Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (11, 12).*

## Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 13 giorni.

*Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.*

## Fattore di conversione

$\mu\text{mol/L} \times 0,585 = \text{mg/L}$

$\mu\text{mol/L} \times 0,0585 = \text{mg/dL}$

## Riferimenti bibliografici

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 1125-1177.
3. Rand RN, Di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) **6**: 570-8.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1<sup>st</sup> ed. Darmstadt: GIT Verlag, (2001): 18-9.
5. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP17-A (2004) **24** (34).
6. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
7. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
8. Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP6-A (2003) **23** (16).
9. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 2<sup>nd</sup> ed., CLSI (NCCLS) document EP9-A2 (2002) **22** (19).
10. Passing H, Bablock W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-20.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
12. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2<sup>nd</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.