

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

REF	A11A01639
REAGENT 1	29,5 mL
REAGENT 2	9,8 mL



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

■ Pentra C400

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

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: Bili-T

1.xx (neonati: non destinato all'utilizzo negli Stati Uniti)

Uso previsto

Il reagente **ABX Pentra Bilirubin, Total CP** è destinato alla determinazione diagnostica quantitativa *in vitro* della bilirubina totale nel siero e nel plasma umani sulla base di un test fotometrico con 2,4-dicloroanilina (DCA).

Uso nei laboratori di analisi.

Le misurazioni dei livelli di bilirubina (diretta o totale), un composto organico formatosi durante la distruzione normale e anormale dei globuli rossi, sono utilizzate come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio di disturbi epatici, eritrocitari e metabolici.

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. Una miscela specifica di detergenti consente una determinazione sicura della bilirubina totale.

Reagenti

ABX Pentra Bilirubin, Total CP è pronto all'uso.

Reagente 1:

Tampone fosfato	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L

Reagente 2:

Sale di 2,4-diclorofenil-diazonio	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L

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

ABX Pentra Bilirubin, Total 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

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

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)
- **ABX Pentra P MultiControl** (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

- Analizzatore automatico di chimica clinica: Pentra C400
- Calibratore: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlli:
ABX Pentra N MultiControl (1300054414)
ABX Pentra P MultiControl (1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

Campione

La popolazione a cui è destinato questo dispositivo è la popolazione generale.

- 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 (1, 4):

- A 20-25°C: 1 giorno
- A 4-8°C: 7 giorni
- A -20°C: 6 mesi (se congelato immediatamente)

Congelare una volta sola.

Eliminare i campioni contaminati.

È estremamente importante conservare i campioni al riparo dalla luce.

In caso di forte esposizione ai raggi solari: la bilirubina totale diminuisce fino al 30% dopo 1 ora.

Range di riferimento ^a (1)

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

	[mg/dL]	[µmol/L]
Neonati destinato all'utilizzo Stati Uniti):		
24 ore	< 8,7	< 150
2° giorno	1,3 - 11,3	22 - 193
3° giorno	0,7 - 12,7	12 - 217
4° - 6° giorno	0,1 - 12,6	2 - 216
Adulti:	0,1 - 1,2	1,7 - 21

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Ciò è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre

^aModifica: modifica del range di riferimento.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

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 C400".

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

Precauzioni di carattere generale ^b

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*. Per uso in laboratorio.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.

■ Reagenti 1 e 2 (R1 e R2):

Pericolo

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

P234: Conservare soltanto nel contenitore originale.

P260: Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P264: Lavarsi accuratamente le mani dopo l'uso.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P301 + P330 + P331: IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia.

P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310: Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

P390: Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.

P405: Conservare sotto chiave.

P501: Smaltire il prodotto e il recipiente secondo ogni regolamento locale, regionale, nazionale e internazionale.

■ Reagente 1 (R1):

H400: Molto tossico per gli organismi acquatici.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P391: Raccogliere il materiale fuoriuscito.

Contiene: Acido cloridrico e bromuro di cetrimonio.

■ Reagente 2 (R2):

Contiene: Acido cloridrico e dodecan-1-olo, etossilato.

- 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.

^bModifica: modifica delle precauzioni di carattere generale.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA Medical prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro ^c

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra che la variabilità tra i lotti rientra entro i limiti delle specifiche:

Valore del campione	Specificità
< 20 µmol/L	< 2 µmol/L
> 20 µmol/L	< 10%

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA Medical.

Numero di analisi: 130 test

Se il numero di analisi richieste è basso e l'utente di Pentra C400 intende utilizzare la cassetta al massimo della sua stabilità una volta caricata, HORIBA Medical consiglia di utilizzare il prodotto di consumo XEC232 (kit membrane) per ottenere il numero di analisi riportato nelle presenti indicazioni.

Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di Pentra C400 è stabile per 25 giorni.

Volume del campione: 8 µL/test

Limite di rilevabilità

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) ed equivale a 1,49 µmol/L (0,09 mg/dL).

Limite di quantizzazione

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) ed equivale a 2,4 µmol/L (0,14 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
- 5 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio µmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	16,6	1,0	2,14
Campione di controllo 2	87,6	5,1	0,99
Campione 1	10,3	0,6	3,09
Campione 2	14,6	0,9	2,23
Campione 3	37,7	2,2	1,33
Campione 4	142,8	8,4	0,83
Campione 5	312,0	18,7	0,51

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 1	16,9	1,0	4,04
Campione di controllo 2	94,1	5,5	1,70
Campione 1	13,6	0,8	5,97
Campione 2	49,0	2,9	2,78
Campione 3	156,1	9,1	2,20

Intervallo di misurazione

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 2,4 µmol/L (0,2 mg/dL) e 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL).

^cModifica: specificità di variabilità da un lotto a un altro aggiunta.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Con la post-diluizione automatica, l'intervallo di misurazione viene esteso fino a 1350,0 $\mu\text{mol/L}$ (79,0 mg/dL).

La linearità del reagente è stata valutata fino a 450,0 $\mu\text{mol/L}$ (26,3 mg/dL) secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (8).

Correlazione (campioni adulti)

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 101

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (9).

I valori presentano variazioni comprese tra 5,75 $\mu\text{mol/L}$ (0,34 mg/dL) e 441,90 $\mu\text{mol/L}$ (25,85 mg/dL).

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

$$Y = 1,024 X - 2,402 \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

$$Y = 1,024 X - 0,1405 \text{ (mg/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,995$.

Correlazione (campioni neonatali (non destinato all'utilizzo negli Stati Uniti))

Campioni dei pazienti: siero

Numero di campioni dei pazienti: 111

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (9).

I valori presentano variazioni comprese tra 3,40 $\mu\text{mol/L}$ (0,20 mg/dL) e 432,75 $\mu\text{mol/L}$ (25,32 mg/dL).

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

$$Y = 0,953 X + 0,2755 \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

$$Y = 0,953 X + 0,01612 \text{ (mg/dL)}$$

con un coefficiente di correlazione $r^2 = 0,992$.

Interferenze ^d

Emoglobina: Nessuna influenza significativa fino a 290 $\mu\text{mol/L}$ (500 mg/dL).

Trigliceridi: Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 4,40 mmol/L (385 mg/dL).

Acido ascorbico: Nessuna influenza significativa fino a 340 $\mu\text{mol/L}$ (5,98 mg/dL).

Ibuprofene: Nessuna influenza significativa fino a 2,43 mmol/L (50,10 mg/dL).

Acetaminofene: Nessuna influenza significativa fino a 1324 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL).

Acido acetilsalicilico: Nessuna influenza significativa fino a 3,62 mmol/L (65 mg/dL).

N-acetil-p-benzochinoneimina (NAPQI): Nessuna influenza significativa osservata fino a 250 $\mu\text{mol/L}$ (3,73 mg/dL).

Eltrombopag: Nessuna influenza significativa osservata fino a 30 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 10 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

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

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

Bibliografia

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st 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. 3rd 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. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.
5. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
6. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocoles de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.

^dModifica: modifica delle interferenze.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

7. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
8. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
9. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
10. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
12. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.