

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



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

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

■ Pentra C400

Odczynnik diagnostyczny do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia bilirubiny całkowitej w surowicy krwi lub osoczu metodą kolorymetryczną.

Wersja aplikacji

Surowica, osocze: Bili-T

1.xx (noworodki: do użytku poza Stanami Zjednoczonymi)

Zastosowanie

ABX Pentra Bilirubin, Total CP jest przeznaczony do ilościowego diagnostycznego oznaczenia *in vitro* bilirubiny całkowitej w surowicy i osoczu człowieka na podstawie testu fotometrycznego z użyciem 2,4-dichloroaniliny (DCA).

Do użytku w laboratoriach klinicznych. Pomiary stężeń bilirubiny (bezpośredniej lub całkowitej), organicznego związku powstającego podczas prawidłowego i nieprawidłowego rozkładu krwinek czerwonych, są wykorzystywane jako pomoc w diagnostyce i obserwacji chorób wątroby czerwonych krwinek i zaburzeń metabolicznych.

Aspekty kliniczne (1, 2)

Bilirubina to związek powstały w wyniku rozpadu hemoglobiny. Wolna, niezwiązana bilirubina jest wysoce niepolarna i prawie nierozpuszczalna w wodzie. Tworzy kompleks z albuminą, przechodząc we krwi ze śledziony do wątroby. W wątrobie bilirubina wiąże się z kwasem glukuronowym, tworząc rozpuszczalne w wodzie glukuronidy bilirubiny, które następnie są wydalane przez drogi żółciowe.

Hiperbilirubinemia może być spowodowana przez zwiększone wytwarzanie bilirubiny związane z hemolizą (żółtaczką hemolityczną), uszkodzenie miąższu wątroby (żółtaczką miąższową) oraz niedrożność dróg żółciowych (żółtaczką mechaniczną). Przewlekła, wrodzona (przeważnie niezwiązana) hiperbilirubinemia, tzw. zespół

Gilberta, jest dość często występującym schorzeniem. Wysokie stężenie bilirubiny całkowitej obserwuje się u 60-70% noworodków. Jest to związane z podwyższonym poporodowym rozpadem erytrocytów oraz opóźnioną reakcją enzymów odpowiedzialnych za rozkład bilirubiny. Powszechnie stosowane metody pozwalają na wykrycie bilirubiny całkowitej lub bilirubiny bezpośredniej. W oznaczeniach bilirubiny bezpośredniej mierzy się przede wszystkim bilirubinę związaną, rozpuszczalną w wodzie. Poziom bilirubiny niezwiązanej wyznacza się jako różnicę pomiędzy bilirubiną całkowitą a bezpośrednią.

Metoda (3)

Metoda fotometryczna z zastosowaniem 2,4-dichloroaniliny (DCA).

Bilirubina bezpośrednia w obecności diazowanej 2,4-dichloroaniliny w roztworze kwaśnym tworzy zabarwiony na czerwono związek azowy. Specyficzna mieszanka detergentów pozwala na pewne oznaczenie bilirubiny całkowitej.

Odczynniki

ABX Pentra Bilirubin, Total CP jest gotowy do użycia.

Odczynnik 1:

Bufor fosforanowy	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L

Odczynnik 2:

Sól 2,4-dichlorofenylo-diazoniowa	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L

ABX Pentra Bilirubin, Total CP należy używać zgodnie z niniejszą ulotką. Producent nie może zagwarantować

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

właściwego działania produktu, jeżeli zostanie on użyty w sposób inny od podanego.

Postępowanie z preparatem

1. Wyjmij obie zatyczki kasety.
2. Jeżeli odczynnik zawiera pianę, usuń ją za pomocą plastikowej pipety.
3. Umieść kasetę w odpowiedniej chłodzonej komorze odczynnikowej.

Kalibrator

Do celów kalibracji należy używać:

ABX Pentra Multical (A11A01652) (do oddzielnego zakupu)
10 x 3 mL (liofilizat)

Kontrola

Do wewnętrznej kontroli jakości należy używać:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (liofilizat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (liofilizat)

Oznaczenie kontroli powinno być przeprowadzane raz dziennie i/lub po wykonaniu kalibracji.

Częstość przeprowadzania kontroli oraz przedziały ufnosci powinny być ustalone w oparciu o wytyczne laboratoryjne oraz przepisy obowiązujące w danym kraju. Należy przestrzegać krajowych, regionalnych i lokalnych wytycznych dotyczących materiałów do kontroli jakości. Wynik kontroli musi zawierać się w zdefiniowanych przedziałach ufnosci. Każde laboratorium powinno wypracować sposób postępowania w przypadku, gdy wyniki wykroczą poza wyznaczone przedziały.

Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu

- Zautomatyzowany kliniczny analizator biochemiczny: Pentra C400
- Kalibrator: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)

- Kontrole:
ABX Pentra N MultiControl (1300054414)
ABX Pentra P MultiControl (1300054415)
- Standardowy sprzęt laboratoryjny.

Próbka

Populacją testowaną dla tego wyrobu jest populacja ogólna.

- Surowica.
- Osocze pobrane z heparyną litową.

Firma HORIBA Medical nie prowadziła testów dla antykoagulantów innych niż wymienione na liście i w związku z tym nie zaleca ich używania dla potrzeb tego oznaczenia.

Stabilność (1, 4):

- W temperaturze 20–25°C: 1 dzień
- W temperaturze 4–8°C: 7 dni
- W temperaturze -20°C: 6 mies. (pod warunkiem natychmiastowego zamrożenia)

Zamrażać tylko raz!

Skażone próbki zutylizować.

Należy dopilnować, aby próbki były przechowywane bez dostępu światła!

W przypadku wystawienia na silne promieniowanie słoneczne: zmniejszenie się ilości bilirubiny całkowitej do 30% po upływie 1 godziny.

Zakres norm ^a (1)

Każde laboratorium powinno wypracować swoje własne zakresy odniesienia. Wartości podane w niniejszej ulotce mają wyłącznie charakter orientacyjny.

	[mg/dL]	[µmol/L]
Noworodki (do użytku poza Stanami Zjednoczonymi):		
24 godziny	< 8,7	< 150
Drugi dzień	1,3 - 11,3	22 - 193
Trzeci dzień	0,7 - 12,7	12 - 217
4-6 dzień	0,1 - 12,6	2 - 216
Dorośli:	0,1 - 1,2	1,7 - 21

^aModyfikacja: modyfikacja zakresu odniesienia.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Dla tego analitu rzadko zgłasza się czułość i swoistość kliniczną, dodatnią wartość predykcyjną i negatywną wartość predykcyjną. Jest to głównie spowodowane faktem, że ten analit nie stanowi jedynego wskaźnika w zakresie wyznaczonego celu i podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjenta. W celu postawienia diagnozy i zaplanowania leczenia należy użyć wyników innych rutynowych testów biochemicznych w połączeniu z innymi informacjami diagnostycznymi oraz oceną stanu pacjenta wykonaną przez specjalistę opieki służby zdrowia.

Przechowywanie i stabilność

Stabilność przed otwarciem:

Zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie pod warunkiem przechowywania w temperaturze 2-8°C.

Stabilność po otwarciu:

Przejdź do rozdziału „Wydajność przy użyciu w analizatorze Pentra C400”.

Nie zamrażać.

Postępowanie z odpadami

Należy postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.

Ogólne środki ostrożności ^b

- Niniejszy odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
Do użytku laboratoryjnego.
- Wyłącznie do stosowania z przepisu lekarza.
- Ten odczynnik został sklasyfikowany jako szkodliwy w rozumieniu rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.

■ Odczynnik 1 i 2 (R1 i R2):

Niebezpieczeństwo

H290: Może powodować korozję metali.

H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

P234: Przechowywać wyłącznie w oryginalnym pojemniku.

P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.

P264: Umyć dokładnie ręce po użyciu.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P301 + P330 + P331: W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów.

P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.

P304 + P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P310: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.

P390: Usunąć wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.

P405: Przechowywać pod zamknięciem.

P501: Zawartość pojemnika jak i pojemnik utylizować zgodnie z lokalnymi, regionalnymi, narodowymi oraz międzynarodowymi przepisami.

■ Odczynnik 1 (R1):

H400: Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powoduje długotrwałe skutki.

P273: Unikać uwolnienia do środowiska.

P391: Zebrać wyciek.

Zawartość: Kwas solny i bromek cetrymonowy.

■ Odczynnik 2 (R2):

Zawartość: Kwas solny i dodekan-1-ol, etoksyłowane.

- Przy pracy należy stosować standardowe laboratoryjne środki ostrożności.

- Kasety odczynnikowe są kasetami jednorazowego użytku, należy je utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.

- Należy uważnie zapoznać się z kartą charakterystyki (MSDS) dołączoną do odczynnika.

^bModyfikacja: modyfikacja opisu ogólnych środków ostrożności.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

- Nie używać produktu, jeżeli można zaobserwować zmianę jego cech biologicznych, chemicznych lub fizycznych, co wskazuje na jego nieprzydatność do użytku.
- Nie należy używać tego produktu w przypadku nieprzestrzegania warunków magazynowania, w tym w zakresie temperatury.
- Przed przystąpieniem do obsługi urządzenia użytkownik musi zostać przeszkolony przez przedstawiciela firmy HORIBA Medical.
- Użytkownik ma obowiązek sprawdzić, czy niniejszy dokument dotyczy używanego w danym przypadku odczynnika.
- W celu uzyskania pomocy technicznej zadzwoń pod numer +33 (0)4 67 14 15 16.
- Każdy poważny incydent wynikający ze stosowania wyrobu należy zgłaszać producentowi i organowi kraju właściwemu dla miejsca pobytu użytkownika lub pacjenta.

Wydajność w analizatorze Pentra C400

Zmienność między seriami ^c

Odzysk próbek (surowicy i osocza) wykonany podczas zwolnienia QC trzech kolejnych serii odczynnika wskazuje, że zmienność między seriami jest zgodna ze specyfikacją:

Wartość przykładowa	Specyfikacja
< 20 µmol/L	< 2 µmol/L
> 20 µmol/L	< 10%

Surowica, osocze

Dane przedstawione poniżej to wartości uzyskiwane na analizatorach HORIBA Medical.

Liczba oznaczeń: 130 testów

Jeżeli liczba zleconych oznaczeń jest niewielka, a użytkownik analizatora Pentra C400 zamierza korzystać z tej kasety do końca okresu jej stabilności roboczej, HORIBA Medical zaleca użycie membrany XEC232, co pozwoli uzyskać podaną w tej ulotce liczbę oznaczeń.

Stabilność robocza odczynników

Po otwarciu kasety z odczynnikami umieszczona w chłodzonej komorze analizatora Pentra C400 zachowuje stabilność przez 25 dni.

Objętość próbki: 8 µL/oznaczenie

Wykrywalność

Granice wykrywalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (5) i wynosi ona 1,49 µmol/L (0,09 mg/dL).

Granica oznaczalności

Granice oznaczalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (5) i wynosi ona 2,4 µmol/L (0,14 mg/dL).

Trafność i precyzja

Powtarzalność (precyzja oznaczenia)

Powtarzalność wg zaleceń procedury Valtec (6) z próbkami poddanymi 20 oznaczeniom:

- 2 kontrole
- 5 próbek (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia µmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	16,6	1,0	2,14
Próbka kontrolna 2	87,6	5,1	0,99
Próbka 1	10,3	0,6	3,09
Próbka 2	14,6	0,9	2,23
Próbka 3	37,7	2,2	1,33
Próbka 4	142,8	8,4	0,83
Próbka 5	312,0	18,7	0,51

Odtwarzalność (precyzja wewnątrzlaboratoryjna)

Odtwarzalność wg zaleceń CLSI (NCCLS), procedura EP5-A2 (7) z próbkami poddawanymi podwójnym oznaczeniom przez 20 dni (2 serie dziennie):

- 2 kontrole
- 3 próbek (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia µmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	16,9	1,0	4,04
Próbka kontrolna 2	94,1	5,5	1,70
Próbka 1	13,6	0,8	5,97

^cModyfikacja: dodano specyfikację zmienności między seriami.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

	Wartość średnia μmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka 2	49,0	2,9	2,78
Próbka 3	156,1	9,1	2,20

Zakres pomiaru

Analiza potwierdziła zakres pomiaru od 2,4 μmol/L (0,2 mg/dL) do 450,0 μmol/L (26,3 mg/dL).

Zakres pomiaru jest rozszerzony do 1350,0 μmol/L (79,0 mg/dL) z automatycznym rozcieńczeniem następczym.

Liniiowość odczynnika została oceniona do 450,0 μmol/L (26,3 mg/dL) zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), protokole EP06-Ed2 (8).

Korelacja (próbki pobrane od dorosłych)

Próbki pobrane od pacjenta: Surowica

Liczba próbek pobranych od pacjenta: 101

Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), protokole EP09c (9).

Wartości zawierały się w przedziale od 5,75 μmol/L (0,34 mg/dL) do 441,90 μmol/L (25,85 mg/dL).

Równanie dla otrzymanej linii allometrycznej (10) jest następujące:

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

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

przy współczynniku korelacji $r^2 = 0,995$.

Korelacja (próbki pobrane od noworodków (do użytku poza Stanami Zjednoczonymi))

Próbki pobrane od pacjenta: surowica

Liczba próbek pobranych od pacjenta: 111

Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), protokole EP09c (9).

Wartości zawierały się w przedziale od 3,40 μmol/L (0,20 mg/dL) do 432,75 μmol/L (25,32 mg/dL).

Równanie dla otrzymanej linii allometrycznej (10) jest następujące:

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

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

przy współczynniku korelacji $r^2 = 0,992$.

Czynniki zakłócające ^d

Hemoglobina: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 290 μmol/L (500 mg/dL).

Triglicerydy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do stężenia triglicerydów 4,40 mmol/L (385 mg/dL).

Kwas askorbinowy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 340 μmol/L (5,98 mg/dL).

Ibuprofen: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 2,43 mmol/L (50,10 mg/dL).

Acetaminofen: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 1324 μmol/L (20 mg/dL).

Kwas acetylosalicylowy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 3,62 mmol/L (65 mg/dL).

N-acetylo-p-benzochinonoinmina (NAPQI): Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 250 μmol/L (3,73 mg/dL).

Eltrombopag: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 30 mg/dL.

Young podaje także inne ograniczenia, a w szczególności listę leków oraz zmiennych przedanalizycznych, które według obecnego stanu wiedzy wpływają na wyniki tej metody (11, 12).

Stabilność kalibracji

Odczynnik jest kalibrowany w dniu 0. Stabilność kalibracji jest kontrolowana przez wykonanie testów na 2 próbkach kontrolnych.

Stabilność kalibracji wynosi 10 dni.

Uwaga: Ponowną kalibrację odczynnika zaleca się w przypadku zmiany jego serii oraz w przypadku, gdy wyniki kontroli jakości wykracza poza założony zakres.

Współczynnik konwersji

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

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

Piśmiennictwo

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.

^dModyfikacja: modyfikacja zakłóceń.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

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. 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 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.