

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania bilirubiny całkowitej w surowicy za pomocą analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*. **Rx Only**.

Historia metody

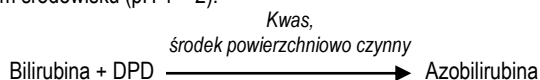
Od czasu wprowadzenia metody diazowej do oznaczania bilirubiny przez Ehrlicha w 1883 r.¹ zaproponowano kilka modyfikacji mających na celu poprawę

reakcja. Metoda Malloya i Evelyn² wykorzystuje metanol do katalizowania reakcji sprzęgania azowego bilirubiny pośredniej, jak również do utrzymywania azobilirubiny w roztworze. Poważną wadą tej metody jest to, że białko może zostać wytrącone przez roztwór metanolowy, co daje fałszywie zaniżone wyniki.

W 1938 r. Jendrassik i Grof.³ przedstawili test, który dał wiarygodne wyniki. Sposób ten jest jednak kłopotliwy i obejmuje kilka etapów pipetowania. Przedstawiona metoda została opracowana przez Wahlefelda i wsp.⁴ Detergent stosuje się w celu przyspieszenia reakcji i uniknięcia wytrącania się białka. Odczynnikiem diazowym jest tetrafluoroboran 2,5-dichlorofenyldiazoniowy (DPD), który reaguje bardzo szybko w sprzęganiu z bilirubiną w warunkach kwaśnych. Otrzymana procedura jest prosta, ale wykazuje dobrą korelację w porównaniu z metodą Jendrassika i Grofa.

Zasada metody

Bilirubina całkowita jest sprzęgana z solą diazoniową (DPD) w silnie kwaśnym środowisku (pH 1 – 2).



Intensywność zabarwienia wytwarzanej azobilirubiny jest proporcjonalna do całkowitego stężenia bilirubiny i może być mierzona fotometrycznie.

Odczynniki

- Odczynnik bilirubiny całkowitej R1: bufor kwasowy 50 mmol/L, środek powierzchniowo czynny.
- Odczynnik bilirubiny całkowitej R2: bufor kwasowy >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD i stabilizatory.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki dostarczane w postaci gotowych do użycia płynów.

Przechowywanie odczynnika

- Zapakowane odczynniki przechowywane w temperaturze 2-8°C. Odczynniki zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie, o ile są przechowywane zgodnie z zaleceniami.
- Nie zamrażać odczynników.
- Unikać wystawiania na bezpośrednie działanie promieni słonecznych.

Degradacja odczynnika

- Nie używać, jeśli odczynniki wykazują oznaki zanieczyszczenia (mętność)
- R2 może wytrącać się bardzo słabo, co nie wpływa na wydajność i rozpuszcza się ponownie, jeśli R2 zostanie delikatnie ogrzany.
- Należy używać odczynnika R2 zawierającego osad, który nie ulega ponownemu rozpuszczeniu i powoduje odbarwienie produktu.
- Nie używać, jeśli odczynnik nie osiąga przypisanych wartości testu świeżych surowic kontrolnych.

Środki ostrożności

- Odczynniki są toksyczne i żrące. Nie pipetować ustami. Unikać kontaktu ze skórą i odzieżą.
- Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Zalecana jest świeża, niehemolizowana surowica.
- Próbki należy poddać analizie w ciągu dwóch godzin od pobrania, jeśli były przechowywane w temperaturze pokojowej w ciemności, oraz w ciągu dwunastu godzin, jeśli były przechowywane w lodówce (2-8°C) i chronione przed światłem.⁵

- Bilirubina w surowicy jest stabilna przez trzy miesiące, jeśli jest przechowywana w stanie zamrożonym (-20°C) i chroniona przed światłem.⁵
- Bezpośrednie światło słoneczne może spowodować spadek bilirubiny nawet o 50% w ciągu godziny.⁶
- Pobieranie próbek należy przeprowadzić zgodnie z NCCLS M29-T2. Żadna metoda nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi ludzkiej nie przeniosą infekcji. Dlatego wszystkie próbki krwi należy traktować jako potencjalnie zakaźne..

Interferencje

- Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS nr EP7-P dotyczących badań interferencji w chemii klinicznej.⁷
- Poziomy hemoglobiny w surowicy do 500 mg/dl nie wpływają na wyniki.
- Stężenie triglicerydów w surowicy do 1000 mg/dl nie wpływa na wyniki.
- Wiele leków i substancji wpływa na wyniki bilirubiny. Patrz Young i wsp.⁸

Materiały zapewnione

- Odczynnik bilirubiny całkowitej R1
- Odczynnik bilirubiny całkowitej R2

Materiały wymagane ale niedostarczane

- Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
- Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240
- Kalibrator chemii Pointe, numer katalogowy C7506-50
- Kontrola Pointe Chemistry, numer katalogowy C7592-100

Parametry testu

Test:	TBIL	Nazwa chem:	Total Bilirubin
Numer:	207	Wydruk:	Total Bilirubin
Typ reakcji:	Punktu końcowego	Kierunek reakcji:	Rosnąca
Di. Fali I:	546 nm	Di. Fali II:	630 nm
Miejsca dziesiętne	0.1	Typ próbki:	Surowica
Próba ślepa:	-2 -1	Cykl reakcji:	18 19
Jednostka:	mg/dL	Cykl inkubacji:	3

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rzucieńczalnik
Prawidłowa:	3	uL	uL	180	uL uL
Zmniejszona:		uL	uL	47	uL uL
Zwiększona:		uL	uL		

Zakres liniowości (Prawidłowy):	0,1-30	Limit liniowości:	
Zakres liniowości (Zmniejszony):		Zużycie substratu:	
Zakres liniowości (Zwiększony):		Mieszana abs. próby ślepej:	- 40000 40000
Abs. R1/próba ślepa:	- 40000 40000	Stabilność na pokładzie:	30 Dni
Próba ślepa	- 40000 40000	Limit alarmu odczynnika:	5

Chemia bliźniacza:

Efekt Prozone:

Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres: Flagi:

Pointe Total Bilirubin Reagent Set

Przesunięcie i nachylenie

Przesunięcie	1	Nachylenie	0	Jednostka	mg/dL
--------------	---	------------	---	-----------	-------

Przygotowanie:

Objętość próbeki: uL Objętość odczynnika: uL

Zakres referencyjny:

Typ próbeki: Płeć: Zakres dla wieku: Zakres ref.: Wartości krytyczne: Jednostka:

Parametry kalibracji

Chem:	T. Bili
Ustawienia kalibracji	
Model mat:	Dwupunktowa liniowa
Factor:	Powtórzenia: 2
Akceptowalne limity	
Ważność kalibracji:	168 godz.
Różnica nachylenia:	SD:
Czułość:	Powtarzalność: * Zdefiniowane przez użytkownika
Współczynnik determinacji	
Automatyczna kalibracja	
<input type="checkbox"/> Po upływie ważności kalib.	

Kalibrator	Stężenie	Poz	Nr serii
Woda	0.0	W	
Chem Cal	*	*	

Kalibracja

Użyj kalibratora surowicy identyfikowalnego przez NIST. Postępuj zgodnie z instrukcjami aplikacji przyrządu w celu kalibracji. Zapoznaj się z instrukcją obsługi przyrządu, aby zapoznać się z procedurami kalibracji i częstotliwością. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własną częstotliwość kalibracji.

Obliczenia (przykład)

Abs. = Absorbancja
Unk. = Nieznany
Cal. = Kalibrator

$\text{Abs. Unk.} - \text{Abs. Unk. Blank} \times \text{Conc. of Cal. (mg/dl)} = \text{Bilirubina całkowita (mg/dl)}$
 $\text{Abs. Cal.} - \text{Abs. Cal. Blank}$

Próbka: Jeśli Abs. of Unknown = 0.35, Abs. of Unknown Blank = 0.01, Abs. Kalibratora = 0.25, Abs. of Calibrator Blank = 0.01, stężenie kalibratora = 5.0 mg/dl

Wtedy: $\frac{0.35 - 0.01}{0.25 - 0.01} \times 5 = \frac{0.34}{0.24} \times 5 = 7.1 \text{ mg/dl}$

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować, stosując surowice kontrolne ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami bilirubiny całkowitej. Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej podczas każdej zmiany roboczej, podczas której wykonywane są oznaczenia bilirubiny całkowitej. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Ograniczenia

1. Próbki o wartości powyżej 30 mg/dl należy rozcieńczyć izotonicznym roztworem soli w stosunku 1:1, ponownie oznaczyć i wynik końcowy pomnożyć przez dwa.
2. Poziomy hemoglobiny w surowicy do 500 mg/dl i triglicerydów do 1000 mg/dl nie wpływają na wyniki.

Charakterystyka

1. Liniowość: 30,0 mg/dl
2. Granica wykrywalności (czułość): 0,15 mg/dl

3. Porównanie: przeprowadzono badanie analizatorów serii Yumizen 200 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, uzyskując współczynnik korelacji 0,999 z równaniem regresji $y=0,902x + 0,02$.
4. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono przy użyciu analizatorów serii Yumizen 200 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.9⁹

W ciągu dnia			Całkowita		
Średnia	S.D.	C.V.%	Średnia	S.D.	C.V.%
0.84	0.08	10.1	0.67	0.04	6.0
5.99	0.14	2.4	5.98	0.25	4.2

Wartości oczekiwane ¹⁰

Razem: Dorosli i niemowlęta w wieku powyżej 1 miesiąca: 0.2 – 1.0 mg/dl

Niemowlęta: Noworodki donoszone

Do 24 godzin: 2.0-6.0 mg/dl

Do 48 godzin: 6.0-10.0 mg/dl

Dni 3-5: 4.0-8.0 mg/dl

Piśmiennictwo

1. Ehrlich, P., Charite Ann. 8:140 (1883).
2. Malloy, H.T., Evelyn, K.A., J. Biol. Chem. 119:481 (1937).
3. Jendrassik, L., Grof, P., Biochem. Zeitschr. 297:81 (1938).
4. Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest. 29 Supplement 126(1972).
5. Martinek, R.G., Clin. Chim. Acta 13:161 (1966).
6. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.1028 (1976).
7. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
8. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
9. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).
10. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, 3rd Ed., p. 1170 (1999)

Symbole

Data przydatności (RRRR-MM-DD)	LOT Nr LOT i kod partii
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

12-HB979-192	Wyrodkowano przez HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		
--------------	---	--	--

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.