

Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă a bilirubinei totale în ser cu ajutorul analizoarelor Yumizen C230 și Yumizen C240. Doar pentru diagnostic *in vitro*. **Rx Only.**

Istoricul metodei

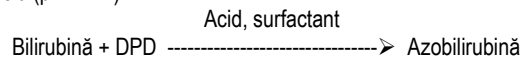
De la introducerea metodei diazo pentru determinarea bilirubinei de către Ehrlich în 1883¹, au fost propuse câteva modificări pentru a îmbunătăți reacția. Metoda Malloy și Evelyn² folosește metanol pentru a cataliza reacția de azocoplare a bilirubinei indirecte, precum și pentru a menține azobilirubina în soluție. Un dezavantaj serios al acestei metode constă în faptul că proteina poate fi precipitată de soluția de metanol, producând rezultate fals scăzute.

În 1938, Jendrassik and Grof³ au prezentat un test care a dat rezultate fiabile. Metoda este, totuși, greoaie și implică mai multe etape de pipetare.

Metoda prezentată aici a fost dezvoltată de Wahlefeld et al.⁴ Se utilizează un detergent pentru a accelera reacția și a evita precipitarea proteinelor. Reactivul diazo este tetrafluoroboratul de 2,5-dicloro-fenil-diazoniu (DPD) care reacționează foarte rapid prin cuplarea cu bilirubina în condiții acide. Procedura rezultată este simplă, dar prezintă o corelație bună în comparație cu metoda lui Jendrassik și Grof.

Principiul

Bilirubina totală este cuplată cu o sare de diazoniu (DPD) într-un mediu puternic acid (pH 1 – 2).



Intensitatea culorii azobilirubinei produse este proporțională cu concentrația de bilirubină totală și poate fi măsurată fotometric.

Reactivi

1. Reactiv R1 bilirubină totală: soluție tampon acidă 50 mmol/L, surfactant.
2. Reactiv R2 bilirubină totală: soluție tampon acidă >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD și stabilizatori.

Prepararea reactivului

Reactivii sunt furnizați sub formă de lichide gata de utilizare.

Depozitarea reactivului

1. Reactivii ambalați se depozitează la 2-8°C. Dacă sunt depozitați conform instrucțiunilor, reactivii sunt stabili până la data de expirare indicată pe etichetă.
2. Nu congelați reactivii.
3. Evitați expunerea la lumina solară directă.

Deteriorarea reactivului

1. Nu utilizați reactivii dacă prezintă semne de contaminare (turbiditate)
2. R2 poate dezvolta o precipitare foarte ușoară care nu afectează performanța și se redizolvă atunci când R2 este încălzit ușor.
3. Reactivul R2 care conține un precipitat care nu se redizolvă și care duce la decolorarea produsului nu trebuie utilizat.
4. Nu utilizați dacă reactivul nu reușește să atingă valorile de test atribuite pentru serurile de control proaspete.

Precauții

1. Reactivii sunt toxici și corozivi. Nu îl aspirați cu pipeta trăgând cu gura. Evitați contactul cu pielea și îmbrăcămintea.
2. Acest reactiv este doar pentru diagnostic *in vitro*.

Recoltarea și depozitarea specimenelor

1. Se recomandă serul proaspăt, nehemolizat.
2. Probele trebuie analizate în termen de două ore de la recoltare dacă sunt păstrate la temperatura camerei la întuneric și în termen de

douăsprezece ore dacă sunt păstrate la frigider (2-8°C) și protejate de lumină.⁵

3. Bilirubina din ser este stabilă timp de trei luni dacă este congelată (-20°C) și protejată de lumină.⁵
4. Lumina directă a soarelui poate determina o scădere de până la 50% a bilirubinei în decurs de o oră.⁶
5. Recoltarea specimenelor trebuie efectuată conform documentului NCCLS M29-T2. Nicio metodă nu poate oferi asigurarea completă că probele de sânge uman nu vor transmite infecții. Prin urmare, toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase.

Interacțiuni

1. Toate studiile de interferență au fost efectuate conform procedurilor recomandate în ghidul NCCLS nr. EP7-P pentru testarea interferențelor în chimia clinică.⁷
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 500 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
3. Nivelurile serice de trigliceride până la 1 000 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
4. O serie de medicamente și substanțe afectează rezultatele bilirubinei. Consultați Young et al⁸

Materiale furnizate

1. Reactiv R1 bilirubină totală
2. Reactiv R2 bilirubină totală

Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Analizorul Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Manualul de utilizare al analizorului Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Soluție de calibrare Pointe Chemistry, număr catalog C7506-50
4. Soluție de control Pointe Chemistry, număr catalog C7592-100

Parametrii testului

Test:	TBIL	Chimie:	Total Bilirubin
Nr. chimie:	207	Denumire:	Total Bilirubin
Tip reacție:	Punct final	Direcție reacție:	Pozitivă
Undă primară:	546 nm	Undă secundară:	630 nm
Zecimal:	0,1	Tip probă:	Ser
Timp martor:	-2 -1	Timp reacție:	18 19
Unitate:	mg/dL	Timp de incubare:	3

	Vol. probă	Aspirat	Diluant	Vol. reactiv	Diluant
Standard;	3	uL	uL	180	uL uL
Redus;		uL	uL	47	uL uL
Crescut;		uL	uL		

Interval linearitate (Standard):	0.1-30	Limită linearitate:	
Interval linearitate (Redus):		Depleția substratului:	
Interval linearitate (Crescut):		Absorbanță martor amestecat:	- 40000 40000
Absorbanță martor R1:	- 40000 40000	Stabilitate în instrument:	30 Zi (zile)
Reacție martor	- 40000 40000	Limită de alarmă reactiv:	5
Chimie twin:			

Verificare prozonă:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Pointe Total Bilirubin Set de reactivi

Utilizare rezultat cantitativ:	Interval:	Marcaj:
--------------------------------	-----------	---------

Decalaj pantă:	Decalaj	pantă	Unitate
	1	0	mg/dL

Tratare prealabilă:	Vol. probă pretrată:	uL	Vol. reactiv pretratat:	uL
---------------------	----------------------	----	-------------------------	----

Interval de referință:	Tip probă:	Sex:	Interval de vârstă:	Interval de referință:	Interval critic:	Unitate:
------------------------	------------	------	---------------------	------------------------	------------------	----------

Parametri configurare calibrare

Chem:	T. Bili	Soluție de calibrare	Conc.	Poz	Nr. lot
Setare calibrare		Apă	0,0	W	
Model matematic:	Liniar în două puncte	Cal. chimică	*	*	
Factor:	Repetări: 2				
Limite de acceptanță					
Timp Cal:	168 hr.				
Dif. pantă:	SD:				
Sensibilitate:	Repetabilitate:				* Definit de utilizator
Coef. Deter:					
Calib. automată	<input type="checkbox"/> Timp Cal				

Calibrarea

Utilizați o soluție de calibrare serică trasabilă NIST. Respectați instrucțiunile aplicației instrumentului pentru calibrare. Consultați instrucțiunile din manualul instrumentului pentru procedurile și frecvența de calibrare. Recomandăm ca fiecare laborator să își stabilească propria frecvență de calibrare.

Calcul (Exemplu)

Abs. = Absorbanță
Nec. = Necunoscut
Cal. = Soluție de calibrare

$Abs. \text{ Nec.} - Abs. \text{ Nec. Martor} \times Conc. \text{ de Cal. (mg/dL)} = \text{Bilirubină totală (mg/dL)}$

$Abs. \text{ Cal.} - Abs. \text{ Martor cal.}$

Probă: Dacă Abs. necunoscută = 0,35, Abs. martorului necunoscut = 0,01, Abs. soluției de calibrare 0,25, Abs. martorului de calibrare = 0,01, Concentrația soluției de calibrare = 5,0 mg/dL

Atunci: $\frac{0,35 - 0,01}{0,25 - 0,01} \times 5 = \frac{0,34}{0,24} \times 5 = 7,1 \text{ mg/dL}$

Controlul calității

Validitatea reacției trebuie monitorizată prin utilizarea serurilor de control cu valori normale și anormale cunoscute ale bilirubinei totale. Aceste soluții de control trebuie procesate cel puțin o dată în fiecare tură de lucru în care se efectuează teste de bilirubină totală. Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propria frecvență de determinare a soluției de control. Cerințele privind controlul calității trebuie stabilite în conformitate cu reglementările locale, statale și/sau federale sau cu cerințele de acreditare.

Limitări

1. Probele cu valori peste 30 mg/dL trebuie diluate 1:1 cu soluție salină izotonică, reprocessate, iar rezultatele trebuie înmulțite cu doi.
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 500 mg/dL și de trigliceride până la 1000 mg/dL nu interferează cu rezultatele.

Performanță

1. Linearitate: 30,0 mg/dL
2. Limita de detecție (sensibilitate): 0,15 mg/dL
3. Comparație: S-a realizat un studiu comparativ între analizoarele din seria Yumizen 200 și un analizor similar cu această metodă, având ca rezultat un coeficient de corelare de 0,999 și o ecuație de regresie $y=0,902x + 0,02$.
4. Precizie: S-au realizat studii de precizie pe analizoarele din seria Yumizen 200, în urma unei modificări a liniilor directe incluse în documentul NCCLS EP5-T2.⁹

În cursul zilei

Media	S.D.	C.V.%
0,84	0,08	10,1
5,99	0,14	2,4

De la o zi la alta

Media	S.D.	C.V.%
0,67	0,04	6,0
5,98	0,25	4,2

Valori așteptate¹⁰

Total: Adulți și sugari cu vârsta peste 1 lună: 0,2 – 1,0 mg/dL

Sugari: Nou-născuți la termen

Până la 24 ore: 2,0-6,0 mg/dL

Până la 48 ore: 6,0-10,0 mg/dL

Zilele 3-5: 4,0-8,0 mg/dL

Referințe

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. Wahlfeld 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. Documentul NCCLS „National Evaluation Protocols for Interference Testing”, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (iunie 1984).
8. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
9. Documentul NCCLS „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”, Ed. a 2-a (1992).
10. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, 3rd Ed., p. 1170 (1999)

Legendă simboluri

A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ)	LOT Cod lot și serie
REF Număr catalog	Producător
IVD Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	Limită de temperatură
Consultați instrucțiunile de utilizare	
Rx Only: Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală	
Marcaj CE	EC REP Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană

REF 12-HB979-192 Produs de HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188 **IVD**

Produs de HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Reprezentant autorizat în Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIA

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



Certificat pentru efectuarea reactivilor

Reactivii Pointe sunt certificați ca fiind fabricați în conformitate cu parametrii specificați. Orice produs reactiv Pointe care nu îndeplinește specificațiile prin data de expirare indicată va fi remediat imediat fără niciun cost suplimentar.

Rev. 11/23

P803-HB979-MIN-RO