

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της άμεσης χολερυθρίνης σε ορό με τη χρήση του αναλυτή Yumizen C560. **Rx Only.**

Ιστορικό μεθόδου

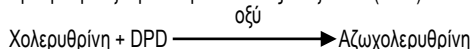
Από την εισαγωγή της μεθόδου diazo για τον προσδιορισμό της χολερυθρίνης από τον Ehrlich το 1883,¹ έχουν προταθεί αρκετές τροποποιήσεις για την ενίσχυση της αντίδρασης. Στη μέθοδο Malloy και Evelyn² εφαρμόζεται μεθανόλη για την κατάλυση της αντίδρασης αζωσύνδεσης της έμμεσης χολερυθρίνης, καθώς και για τη διατήρηση της αζωχολερυθρίνης στο διάλυμα. Ένα σημαντικό μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι η πρωτεΐνη μπορεί να ιζηματοποιηθεί λόγω του διαλύματος μεθανόλης, αποδίδοντας αποτελέσματα ψευδώς χαμηλότερων τιμών.

Το 1938, οι Jendrassik και Grof,³ παρουσίασαν μια δοκιμασία προσδιορισμού που απέδωσε αξιόπιστα αποτελέσματα. Ωστόσο, η μέθοδος είναι δύσχρηστη και εμπεριέχει πολλά βήματα αναρρόφησης με πιπέτα.

Η μέθοδος που παρουσιάζεται στο παρόν αναπτύχθηκε από τους Wahlefeld κ.α.⁴ Το αντιδραστήριο diazo είναι 2,5-διχλωροφαινυλοδιαζόνιο τετραφθοροβορικό (DPD) το οποίο αντιδρά εξαιρετικά ταχέως στη σύζευξη με χολερυθρίνη υπό όξινες συνθήκες. Η προκύπτουσα διαδικασία είναι απλή, ενώ παρουσιάζει καλή συσχέτιση όταν συγκρίνεται με τη μέθοδο των Jendrassik και Grof.

Αρχή της διαδικασίας

Η άμεση χολερυθρίνη συζεύγνυται με ένα άλας διαζωνίου (DPD) σε έντονα όξινο μέσο (pH 1 – 2).



Η ένταση του χρώματος της αζωχολερυθρίνης που παράγεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της άμεσης χολερυθρίνης και μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά.

Αντιδραστήρια

Αντιδραστήριο Direct Bilirubin R1: όξινο ρυθμιστικό διάλυμα 50 mmol/L, Αντιδραστήριο Direct Bilirubin R2: όξινο ρυθμιστικό διάλυμα >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD και σταθεροποιητές

Προφυλάξεις και κίνδυνοι

1. Τα αντιδραστήρια είναι τοξικά και διαβρωτικά. Μην εκτελείτε αναρρόφηση με πιπέτα από το στόμα. Αποφεύγετε την επαφή με το δέρμα και τα ρούχα.
2. Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Κίνδυνοι:

R1 και R2: Κατηγοριοποιήσεις κινδύνων: Διάβρωση/ερεθισμός του δέρματος (Κατηγορία 1), Σοβαρή οφθαλμική βλάβη/ερεθισμός (Κατηγορία 1)

Δηλώσεις κινδύνου: H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες, H318: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό

Δηλώσεις προφύλαξης: P280: Να φοράτε προστατευτικά/γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα απομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο. P264: Πλένετε καλά το δέρμα σας μετά τον χειρισμό.

Αντίδραση: P310: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. P363: Πλένετε τα μολυσμένα ενδύματα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε. P301+P330+P331: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Ξεπλύνετε το στόμα. ΜΗΝ προκαλέσετε εμετό. P303+P361+P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε την ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ με νερό/στον ντους. P304+P340: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. P305+P351+P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. **Φύλαξη:** P404: Φυλάσσεται σε κλειστό περιέκτη. **Απόρριψη:** P501: Απορρίψτε το περιεχόμενο στο αποχετευτικό σύστημα μετά από αραίωση με μεγάλης ποσότητας νερού, σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς. **Ανατρέξτε στο δελτίο δεδομένων ασφάλειας για το συγκεκριμένο προϊόν (SDS-HB936), το οποίο μπορείτε να προμηθευτείτε καλώντας στο 1-734-487-8300.**



Προειδοποιητική λέξη: Κίνδυνος

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια παρέχονται έτοιμα προς χρήση.

Αποθήκευση και σταθερότητα αντιδραστηρίου

1. Τα συσκευασμένα αντιδραστήρια μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία 2-8°C. Το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον φυλάσσεται σύμφωνα με τις οδηγίες.
2. Οι μελέτες του κατασκευαστή έχουν δείξει ότι το αντιδραστήριο είναι σταθερό για 30 ημέρες αν τοποθετηθεί σε περιστρεφόμενο δίσκο αντιδραστηρίων υπό ψύξη (2-10°C). Ωστόσο, η σταθερότητα του αντιδραστηρίου ενδέχεται να διαφέρει ανάλογα με τις συνθήκες κάθε μεμονωμένου εργαστηρίου.
3. Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια.
4. Αποφεύγετε την έκθεση σε άμεσο ηλιακό φως.

Αλλοίωση αντιδραστηρίου

1. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια εάν υπάρχουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης (θολερότητα).
2. Εάν το αντιδραστήριο R2 σχηματίσει πολύ μικρό ίζημα το οποίο επαναδιαλύεται όταν το R2 θερμανθεί ελαφρώς, το αντιδραστήριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί.
3. Τυχόν αντιδραστήριο R2 που περιέχει ίζημα που δεν επαναδιαλύεται και οδηγεί στον αποχρωματισμό του προϊόντος, δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί.
4. Μην χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο εάν δεν επιτευχθούν οι εκχωρημένες τιμές δοκιμασίας προσδιορισμού των φρέσκων ορών μάρτυρα.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

1. Συνιστάται η χρήση φρέσκου, μη αιμολυμένου ορού.⁵
2. Τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση εντός δύο ωρών από τη συλλογή, εάν διατηρούνται σε σκοτεινό μέρος με θερμοκρασία δωματίου, και εντός δώδεκα ωρών, εάν διατηρούνται στο ψυγείο (2-8°C) και προστατεύονται από το φως.⁶
3. Η χολερυθρίνη σε ορό παραμένει σταθερή για τρεις μήνες, εφόσον φυλάσσεται σε συνθήκες κατάψυξης (-20°C) και προστατεύεται από το φως.⁶
4. Το άμεσο ηλιακό φως μπορεί να προκαλέσει έως και 50% μείωση στη χολερυθρίνη εντός μίας ώρας.⁷
5. Η συλλογή δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με το M29-T2 της NCCLS. Καμία μέθοδος δεν μπορεί να διασφαλίσει πλήρως ότι τα δείγματα ανθρώπινου αίματος δεν αποτελούν μολυσματικό παράγοντα. Συνεπώς, όλα τα δείγματα αίματος πρέπει να θεωρούνται εν δυνάμει μολυσματικά.

Αλληλεπιδράσεις

1. Όλες οι μελέτες παρεμβολών πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις διαδικασίες που συνιστώνται στην κατευθυντήρια οδηγία με αρ. EP7-P της NCCLS για τις δοκιμές παρεμβολών κλινικής χημείας.⁸
2. Η αιμοσφαιρίνη ορού σε επίπεδα έως και 66 mg/dL δεν προκαλεί παρεμβολές στα αποτελέσματα.
3. Τα τριγλυκερίδια ορού σε επίπεδα έως και 500 mg/dL δεν προκαλούν παρεμβολές στα αποτελέσματα.
4. Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τα αποτελέσματα χολερυθρίνης. Βλ. Young, et al.⁹

ΣΕΤ αντιδραστηρίων Pointe Direct Bilirubin

Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήρια άμεσης χολερυθρίνης R1 και R2

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Αναλυτής Yumizen C560.
2. Εγχειρίδιο λειτουργίας Yumizen C560.
3. Chemistry Calibrator, αριθμός καταλόγου C7506-50
4. Chemistry Control, αριθμός καταλόγου C7592-100

Βαθμονόμηση

Χρησιμοποιείτε Pointe Chemistry Calibrator (αριθμός καταλόγου C7506-50). Για τη βαθμονόμηση, ακολουθήστε τις οδηγίες εφαρμογής του οργάνου. Για τις διαδικασίες και τη συχνότητα βαθμονόμησης, ανατρέξτε στις οδηγίες του εγχειριδίου του οργάνου. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα βαθμονόμησης. Αν τα αποτελέσματα μάρτυρα βρεθούν εκτός εύρους, η εξέταση ενδέχεται να πρέπει να βαθμονομηθεί εκ νέου. Σε τυπικές καταστάσεις λειτουργίας, η σταθερότητα βαθμονόμησης του κατασκευαστή έχουν δείξει ότι η καμπύλη βαθμονόμησης θα είναι σταθερή για τουλάχιστον 14 ημέρες.

Ποιοτικός έλεγχος

Η εγκυρότητα της αντίδρασης πρέπει να παρακολουθείται μέσω της χρήσης ορών μάρτυρα με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές άμεσης χολερυθρίνης. Αυτοί οι μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμασίες προσδιορισμού άμεσης χολερυθρίνης. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες. Πρέπει να καθιερωθούν απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σε συμμόρφωση με τους τοπικούς, κρατικούς, ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

Αναμενόμενες τιμές (άμεσες)^{7,11}

Ενήλικες και βρέφη (άνω του ενός μηνός): 0 – 0,5 mg/dL

Συνιστάται αυστηρά κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος φυσιολογικών τιμών.

Περιορισμοί

1. Τα δείγματα με τιμές πάνω από 10 mg/dL πρέπει να αραιώνονται με ισοτονικό φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:1, να υποβάλλονται σε εκ νέου δοκιμασία προσδιορισμού και το τελικό αποτέλεσμα να πολλαπλασιάζεται επί δύο.
2. Η αιμοσφαιρίνη ορού σε επίπεδα έως και 66 mg/dL και τα τριγλυκερίδια σε επίπεδα έως και 500 mg/dL δεν προκαλούν παρεμβολές στα αποτελέσματα.

Επίδοση

1. Εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού: 0,0-10,0 mg/dL
2. Σύγκριση: Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ του αναλυτή Yumizen C560 και παρόμοιου αναλυτή με τη χρήση αυτής της μεθόδου, προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

Μέθοδος	Άμεση χολερυθρίνη
N	135
Μέση τιμή άμεσης χολερυθρίνης (mg/dL)	1,625
Εύρος τιμών (mg/dL)	0,00-9,20
Τυπική απόκλιση	2,472
Ανάλυση παλινδρόμησης	$y = 1,097x - 0,065$
Συντελεστής συσχέτισης	0,9912

3. Ακρίβεια: Οι μελέτες ακριβείας εκτελέστηκαν στον αναλυτή Yumizen C560 βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντηρίων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο NCCLS EP5-T2.¹⁰

Δείγμα	Εντός της ημέρας			Σύνολο		
	LOW	MID	HIGH	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	40	40	40
Μέση τιμή	0,74	5,08	9,80	0,77	5,08	9,79
Τυπική απόκλιση	0,05	0,04	0,00	0,04	0,18	0,26
Συντελεστής διακύμανσης (%)	6,8%	0,8%	0,0%	6,6%	4,8%	2,7%

4. Ευαισθησία: 2SD Όριο ανίχνευσης (εμπισ. 95%) = 0,0 mg/dL

Βιβλιογραφία

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. Michaelsson, M. Scand. J. Clin. Lab. Invest (Suppl. 49) 13:1 (1961)
6. Martinek, R.G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
7. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, P. 1028 (1976).
8. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
9. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
10. NCCLS document, "Evaluations of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
11. Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Χημ.:	DBIL	κατ.:	205	Τύπος δείγματος:	Ορός
Χημικό στοιχείο:	Άμεση χολερυθρίνη			Πλήρης ονομασία:	DBIL
Τύπος αντίδρασης:	Τελικό σημείο			Κατεύθυνση αντίδρασης:	Θετική
Πρωτεύον κύμα:	546			Δευτερεύον κύμα:	660
Μονάδα:	mg/dL			Δεκαδικό	0,1
Χρόνος τυφλού:	47	49		Χρόνος αντίδρασης:	80
	Όγκος δείγματος	Αναρροφημένο	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστηρίου	Αραιωτικό
Πρότυπο:	2,7 uL	-- uL	-- uL	R1:	120 uL -- uL
Μειωμένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R2:	31 uL -- uL
Αυξημένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R3:	-- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Τυφλό δείγματος	<input checked="" type="checkbox"/> Αυτόματη εκ νέου ανάλυση		R4:	-- uL -- uL
Ρύθμιση κλίσης/μετατόπισης					
Κλίση: 1		Μετατόπιση: 0			

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο)	0	10	Όριο γραμμικότητας:
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο)	---	---	Μείωση υποστρώματος:
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο)	---	---	Μικτή απορρόφηση τυφλού:
Απορρόφηση τυφλού R1:	---	---	Χρόνος αφαίρεσης πωμάτων
Απόκριση τυφλού:	---	---	Όριο συναγερμού αντιδραστηρίου:
Διπλές χημείες:			<input type="checkbox"/> Γραμμική ενζυμική επέκταση
<input type="checkbox"/> Έλεγχος προζώνης		<input type="checkbox"/> Έλεγχος ρυθμού	<input type="checkbox"/> Προσθήκη αντιγόνου
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

ΣΕΤ αντιδραστηρίων Pointe Direct Bilirubin

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Ορισμός βαθμονομητή						
Βαθμονομητής:	*	Αρ. παρτίδας:	*			
Ημ. λήξης:	*					
Περιστρεφόμενος δίσκος	Θέση					
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 1	*					
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 2						
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 3						
Αντιδραστήριο/Βαθμονόμηση						
<u>Βαθμονομητής</u>	<u>Θέση</u>	<u>Αρ. παρτίδας</u>	<u>Ημ. λήξης</u>	<u>Χημ.</u>	<u>Συγκ.</u>	<u>Μονάδα</u>
Νερό	W	*	*	DBIL	0	mg/dL
Χημικός βαθμονομητής	*	*	*	DBIL	*	mg/dL
Ρύθμιση βαθμονόμησης						
Χημ.:	DBIL					
Ρυθμίσεις βαθμονόμησης						
Μαθηματικό μοντέλο:	Γραμμικό δύο σημείων					
Συντελεστής:		Επαναλήψεις:	2			
Αποδεκτά όρια						
Χρόνος βαθμ.:	336	Ωρα				
Διαφ. κλίσης:	---	SD:	---			
Ευαισθησία:	---	Επαναληψιμότητα:	---			
Συντ. προσδ.:	---					
Αυτόματη βαθμ.						
<input type="checkbox"/> Μεταβολή φιάλης	<input type="checkbox"/> Μεταβολή παρτίδας	<input type="checkbox"/> Χρόνος βαθμ.				

Συνιστάται η καθημερινή δοκιμασία προσδιορισμού τουλάχιστον δύο επιπέδων υλικού μάρτυρα. * Υποδεικνύει παράμετρο που ορίζεται από τον χρήστη.

REF 14-HB936-200



Παρασκευάζεται από
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Υπόμνημα συμβόλων

Χρήση έως (EEEE-MM-ΗΗ)	LOT Παρτίδα και κωδικός παρτίδας	REF Αριθμός καταλόγου
Παρασκευαστής	Όρια θερμοκρασίας	Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης
IVD In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή	

Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, ΒΕΛΓΙΟ

Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ: (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

