

## Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania bilirubiny bezpośredniej w surowicy za pomocą analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

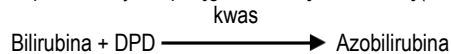
## Historia metody

Od czasu wprowadzenia metody diazowej do oznaczania bilirubiny przez Ehrlicha w 1883 r.<sup>1</sup> zaproponowano kilka modyfikacji usprawniających reakcję. Metoda Malloya i Evelyn<sup>2</sup> wykorzystuje metanol do katalizowania reakcji sprzężenia azowego pośredniej bilirubiny, 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.<sup>3</sup> przedstawili test, który dał wiarygodne wyniki. Sposób ten jest jednak kłopotliwy i obejmuje kilka etapów pipetowania. Przedstawiona tutaj metoda została opracowana przez Wahlefelda i wsp.<sup>4</sup> Odczynnikiem diazowym jest tetrafluoroboran 2,5-dichlorofenyldiazoniowy (DPD), który bardzo szybko reaguje sprzęgając z bilirubiną w środowisku kwaśnym. Otrzymana procedura jest prosta, ale wykazuje dobrą korelację w porównaniu z metodą Jendrassika i Grofa.

## Zasada metody

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



Intensywność koloru wytwarzanej azobilirubiny jest proporcjonalna do stężenia bilirubiny bezpośredniej i może być mierzona fotometrycznie.

## Odczynniki

Odczynnik Direct Bilirubin R1: bufor kwasowy 50 mmol/L, Odczynnik Direct Bilirubin R2: bufor kwasowy >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD i stabilizatory

## Środki ostrożności i zagrożenia

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

### Zagrożenia:

**R1 i R2:** Klasyfikacja zagrożeń: Działanie żrące/drażniące na skórę (kategoria 1), Poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy (kategoria 1)  
Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu, H318: Działa drażniąco na oczy  
Zwroty wskazujące środki ostrożności: Zapobieganie: P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Reagowanie: P310: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub lekarzem. P363: Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. P301+P330+P331: W przypadku POŁKNIECIA: Wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów. P303+P361+P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć/zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spluć SKÓRĘ wodą/prysznicem. P304+P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. P305+P351+P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można to łatwo zrobić. Kontynuuj płukanie. Przechowywanie: P404: Przechowywać w zamkniętym pojemniku. Usuwanie: P501: Zawartość usuwać do kanalizacji po rozcieńczeniu dużą ilością wody, jeżeli jest to zgodne z lokalnymi przepisami. **Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-HB936) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.**



Hasło ostrzegawcze:  
niebezpieczeństwo

## Przygotowanie odczynnika

Dostarczane odczynniki są gotowe do użycia.

## Przechowywanie i stabilność odczynników

- Zapakowane odczynniki można przechowywać w temperaturze 2-8°C. Odczynnik jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, o ile jest przechowywany zgodnie z zaleceniami.
- Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikami (2-10°C), jednak stabilność odczynnika może się różnić w zależności od indywidualnych warunków laboratoryjnych.
- Nie zamrażać odczynników.
- Unikaj wystawiania na bezpośrednie działanie promieni słonecznych.

## Pogorszenie jakości odczynnika

- Nie używać, jeśli odczynniki wykazują oznaki zanieczyszczenia mikrobiologicznego (mętność).
- Jeśli z R2 wytrąca się bardzo nieznaczny osad, który rozpuszcza się ponownie po delikatnym ogrzaniu R2, można użyć odczynnika.
- Nie należy stosować odczynnika R2 zawierającego osad, który nie ulega ponownemu rozpuszczeniu i powoduje odbarwienie produktu.
- Nie używać, jeśli odczynnik nie osiąga wyznaczonych wartości testu świeżych surowic kontrolnych.

## Pobieranie i przechowywanie próbek

- Zaleca się świeżą, niezhemolizowaną surowicę.<sup>5</sup>
- 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.<sup>6</sup>
- Bilirubina w surowicy jest stabilna przez trzy miesiące, jeśli jest przechowywana w stanie zamrożonym (-20°C) i chroniona przed światłem.<sup>6</sup>
- Bezpośrednie światło słoneczne może spowodować spadek bilirubiny nawet o 50% w ciągu godziny.<sup>7</sup>
- 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.<sup>8</sup>
- Poziomy hemoglobiny w surowicy do 66 mg/dl nie wpływają na wyniki.
- Stężenie triglicerydów w surowicy do 500 mg/dl nie wpływa na wyniki.
- Wiele leków i substancji wpływa na wyniki bilirubiny. Patrz Young i in.<sup>9</sup>

# Pointe Direct Bilirubin Reagent Set

## Materiały wymagane

Direct bilirubin reagents R1 and R2

## Materiały wymagane, niedostraczone

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
3. Chemistry Calibrator, numer katalogowy C7506-50
4. Chemistry Control, numer katalogowy C7592-100

## Kalibracja

Użyj Pointe Chemistry Calibrator (Numer katalogowy C7506-50). 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. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, test może wymagać ponownej kalibracji. W typowych warunkach pracy badania stabilności kalibracji producenta wykazały, że krzywa kalibracji jest stabilna przez co najmniej 14 dni.

## Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować, stosując surowice kontrolne ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami bilirubiny bezpośredniej. Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej podczas każdej zmiany roboczej, podczas której wykonywane są oznaczenia bilirubiny bezpośredniej. 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.

## Wartości oczekiwane (Bezpośrednia)<sup>7,11</sup>

Dorośli i niemowlęta (powyżej miesiąca): 0 – 0,5 mg/dl

Stanowczo zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres normy.

## Ograniczenia

1. Próbkę o wartościach powyżej 10 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 66 mg/dl i trójglicerydów do 500 mg/dl nie wpływają na wyniki.

## Charakterystyka

1. Zakres testu: 0.0-10.0 mg/dl
2. Porównanie: przeprowadzono badanie Yumizen C560 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskano następujące dane:

Metoda	Bilirubina bezpośrednia
N	135
Średnia bilirubina bezpośrednia (mg/dL)	1.625
Zakres (mg/dL)	0.00-9.20
Odchylenie standardowe	2.472
Regresja	$y = 1.097x - 0.065$
Współczynnik korelacji	0.9912

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono za pomocą analizatora Yumizen C560 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.<sup>10</sup>

Sample	W ciągu dnia		
	NISKA	SREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20
Średnia	0.74	5.08	9.80
Odchylenie standardowe	0.05	0.04	0.00
Współczynnik wariancji (%)	6.8%	0.8%	0.0%

Próbka	Całkowita		
	NISKA	SREDNIA	WYSOKA
N	40	40	40
Średnia	0.77	5.08	9.79
Odchylenie standardowe	0.04	0.18	0.26
Współczynnik wariancji (%)	6.6%	4.8%	2.7%

4. Czulość: granica wykrywalności 2 SD (95% konf.) = 0,0 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. 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).

## PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	DBIL	Nr.:	205	Typ próbki:	Surowica
Nazwa chem:	Bilirubina bezpośrednia	Wydruk:	DBIL	Kierunek reakcji:	Rosnąca
Rodzaj reakcji:	Punktu końcowego	II dł. fali:	660	Miejsca dziesiętne:	0.1
I dł. fali:	546	Cykl pomiaru próbki:	80	82	
Jednostka:	mg/dL	Obj. próbki:	Aspiracja	Rozcieńczalnik	
Cykl pomiaru próby ślepej:	47	49	Obj. odczynnika:	Rozcieńczalnik	
Podstawowa:	2.7	ul	---	ul	---
Zmniejszona:	---	ul	---	ul	---
Zwiększona:	---	ul	---	ul	---
<input type="checkbox"/> Próba ślepa		<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.		R1:	120 ul
				R2:	31 ul
				R3:	---
				R4:	---

### Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0
Zakres liniowości (podstawowy)	0 10
Zakres liniowości (Zwiększony)	___
Zakres liniowości (Zmniejszony)	___
Abs R1/próba ślepa:	___
Pusta odpowiedź:	___
Chemia bliźniacza:	

Limit liniowości:

Zużycie substratu:  
Mieszana  
absorbancja próby  
ślepej:  
Czas  
odkorkowania:  
Limit alarmu  
odczynnika:  
 Rozszerzalność liniowa dla  
enzymu

Efekt Prozone

Ocena wskaźnika

Dodanie antygeny

Q1:

Q2:

Q3:

Q4:

PC:

ABS:

