

Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă a bilirubinei directe în ser cu ajutorul analizorului Yumizen C560. **Rx Only.**

Istoricul metodei

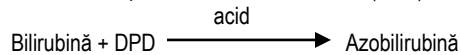
De la introducerea metodei diazo pentru determinarea bilirubinei de către Ehrlich în 1883¹, au fost propuse câteva modificări pentru a îmbunătăți reacția. Metoda Malloy și Evelyn² folosește metanol pentru a cataliza reacția de azocuplare a bilirubinei indirecte, precum și pentru a menține azobilirubina 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 Grof.³ 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 Reactivul diazo este tetrafluorboratul de 2,5-dicloro-fenil-diazoni (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 directă 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 directă și poate fi măsurată fotometric.

Reactivi

Reactiv R1 bilirubină directă: soluție tampon acidă 50 mmol/L, reactiv R2 bilirubină directă: soluție tampon acidă >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD și stabilizatori

Precauții și pericole

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*.

Pericole:

R1 și R2: Clasificarea pericolelor: Corodarea/iritarea pielii (Categorია 1), Leziuni oculare grave/iritarea ochilor (Categorია 1)

Fraze de pericol: H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și leziuni oculare, H318: Provoacă iritarea gravă a ochilor.

Fraze de precauție: **Prevenire:** P260: Nu inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. P264: Spălați bine pielea după manipulare. P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/protecție pentru ochi/protecție pentru față. **Reacție:** P310: Contactați imediat un CENTRU TOXICOLOGIC sau un medic. P363: Spălați hainele contaminate înainte de a le refolosi. P301+P330+P331: ÎN CAZ DE INGERARE: Clătiți gura. NU induceți vărsături. P303+P361+P353: ÎN CAZUL CONTACTULUI CU PIELEA (sau părul): Scoateți imediat toate articolele de îmbrăcăminte contaminate. Spălați PIELEA cu apă/faceți duș.

P304+P340: ÎN CAZ DE INHALARE: Duceți victima la aer curat și mențineți-o în poziție de repaus, într-o poziție confortabilă pentru respirație. P305+P351+P338: ÎN CAZUL CONTACTULUI CU OCHII: Clătiți cu apă cu atenție timp de câteva minute. Scoateți lentilele de contact, dacă există și dacă puteți face acest lucru cu ușurință. Continuați clătirea. **Depozitarea:** P404: Depozitați într-un recipient închis. **Eliminarea:** Eliminarea conținutului în sistemul de canalizare după diluarea cu volume mari de apă, dacă acest lucru este în conformitate cu reglementările locale.

Consultați fișa cu date de securitate a acestui produs (SDS-HB936) disponibilă prin apel la 1-734-487-8300.



Cuvânt de avertizare:
Pericol

Prepararea reactivului

Reactivii sunt furnizați gata de utilizare.

Depozitarea și stabilitatea reactivilor

1. Reactivii ambalați pot fi depozitați la 2-8°C. Dacă este depozitat conform instrucțiunilor, reactivul este stabil până la data de expirare indicată pe etichetă.
2. Studiile producătorului au arătat că reactivul este stabil timp de 30 de zile dacă este amplasat la frigider, în caruselul pentru reactivi (2-10°C), totuși stabilitatea reactivului poate varia în funcție de condițiile individuale ale laboratorului.
3. Nu congelați reactivii.
4. Evitați expunerea la lumina solară directă.

Deteriorarea reactivului

1. Nu utilizați reactivii dacă prezintă semne de contaminare microbiană (turbiditate).
2. Dacă R2 dezvoltă o precipitare foarte ușoară care se redizolvă atunci când R2 este încălzit ușor, se poate folosi reactivul.
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.

Recoltarea și depozitarea speciemenelor

1. Se recomandă serul proaspăt, nehemolizat.⁵
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.⁶
3. Bilirubina din ser este stabilă timp de trei luni dacă este congelată (-20°C) și protejată de lumină.⁶
4. Lumina directă a soarelui poate determina o scădere de până la 50% a bilirubinei în decurs de o oră.⁷
5. Recoltarea speciemenelor 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.⁸
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 66 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
3. Nivelurile serice de trigliceride până la 500 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
4. O serie de medicamente și substanțe afectează rezultatele bilirubinei. Consultați Young et al⁹

Pointe Direct Bilirubin Set de reactivi

Materiale furnizate

Reactivi pentru bilirubina directă R1 și R2

Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Analizorul Yumizen C560.
2. Manualul de utilizare al analizorului Yumizen C560.
3. Soluție de calibrare chimică, număr catalog C7506-50
4. Soluție de control chimic, număr catalog C7592-100

Calibrarea

Utilizați soluția de calibrare Pointe Chemistry (număr catalog C7506-50). 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. Dacă rezultatele soluției de control sunt în afara limitelor, poate fi necesară recalibrarea testului. În condiții de funcționare tipice, studiile producătorului privind stabilitatea calibrării au indicat că curba de calibrare va fi stabilă timp de cel puțin 14 zile.

Controlul calității

Validitatea reacției trebuie monitorizată prin utilizarea serurilor de control cu valori normale și anormale cunoscute ale bilirubinei directe. Aceste soluții de control trebuie procesate cel puțin o dată în fiecare tură de lucru în care se efectuează teste de bilirubină directă. 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.

Valori așteptate (directe)^{7,11}

Adulți și sugari (cu vârsta peste o lună): 0 – 0,5 mg/dL

Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval normal.

Limitări

1. Probele cu valori peste 10 mg/dL trebuie diluate 1:1 cu soluție salină izotonică, reprocessate, iar rezultatele trebuie înmulțite cu doi.
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 66 mg/dL și de trigliceride până la 500 mg/dL nu interferează cu rezultatele.

Performanță

1. Interval test: 0,0-10,0 mg/dL
2. Comparație: S-a realizat un studiu comparativ între Yumizen C560 și un analizor similar cu această metodă, cu următoarele rezultate:

Metodă	Direct Bilirubin
N	135
Bilirubină directă medie (mg/dL)	1,625
Interval (mg/dL)	0,00-9,20
Abaterea standard	2,472
Analiza regresiei	$y = 1.097x - 0.065$
Coefficient de corelare	0,9912

3. Precizie: S-au realizat studii de precizie pe analizorul Yumizen C560, în urma unei modificări a liniilor directe incluse în documentul NCCLS EP5-T2.¹⁰

Probă	În cursul zilei		
	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ
N	20	20	20
Medie	0,74	5,08	9,80
Abaterea standard	0,05	0,04	0,00
Coefficient de variație (%)	6,8%	0,8%	0,0%

Probă	Total		
	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ
N	40	40	40
Medie	0,77	5,08	9,79
Abaterea standard	0,04	0,18	0,26
Coefficient de variație (%)	6,6%	4,8%	2,7%

4. Sensibilitate: 2 SD limita de detecție (CI 95%) = 0,0 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. 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. Documentul NCCLS „National Evaluation Protocols for Interference Testing”, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (iunie 1984).
9. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
10. Documentul NCCLS „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”, Ed. a 2-a. (1992)
11. Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

PARAMETRI CHIMICI

Chem:	DBIL	Nr.:	205	Tip probă:	Ser	
Chimie:	Bilirubina directă			Denumire:	DBIL	
Tip reacție:	Punct final			Direcție reacție:	Pozitiv	
Undă primară:	546			Undă secundară:	660	
Unitate:	mg/dL			Zecimal	0,1	
Timp martor:	47	49		Timp reacție:	80	82
	Volum probă	Aspirat	Diluant	Volum reactiv	Diluant	
Standard:	2,7 uL	--- uL	--- uL	R1:	120 uL	--- uL
Redus:	--- uL	--- uL	--- uL	R2:	31 uL	-- uL
Crescut:	--- uL	--- uL	--- uL	R3:	--- uL	-- uL
	<input type="checkbox"/> Probă martor	<input checked="" type="checkbox"/> Reprocesare automată		R4:	--- uL	--- uL
<u>Ajustare pantă/decalaj</u>						
Pantă: 1		Decalaj: 0				

Interval linearitate (Standard)	0	10	Limită linearitate:
Interval linearitate (Redus)	---	---	Depleția substratului:
Interval linearitate (Crescut)	---	---	Absorbanță martor amestecat:
Absorbanță martor R1:	---	---	Timp fără capac
Reacție martor:	---	---	Limită de alarmă reactiv:
Chimie twin:			<input type="checkbox"/> Extensie enzimatică liniară
<input type="checkbox"/> Verificare prozonă	<input type="radio"/> Verificare viteză	<input type="radio"/> Adăugare antigen	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Pointe Direct Bilirubin Set de reactivi

PARAMETRI CALIBRARE

Definire soluție de calibrare

Soluție de calibrare: *

Nr. lot: *

Data expirării: *

Carusel

Poz

Carusel probă 1

*

Carusel probă 2

Carusel probă 3

Reactiv/Calibrare

<u>Soluție de calibrare</u>	<u>Poz</u>	<u>Nr. lot</u>	<u>Data expirării</u>	<u>Chem</u>	<u>Conc</u>	<u>Unitate</u>
Apă	A	*	*	DBIL	0	mg/dL
Calibrator de chimie	*	*	*	DBIL	*	mg/dL

Configurare calibrare

Chem: DBIL

Setări calibrare

Model matematic: Liniar în două puncte

Factor: Repetări: 2

Limite de acceptanță

Timp Cal: 336 Oră

Dif. pantă: --- SD: ---

Sensibilitate: --- Repetabilitate: ---

Coef. Deter: ---

Calib. automată

Flacon schimbat Lot schimbat Timp Cal

Se recomandă testarea zilnică a două niveluri ale materialului de control. * Indică parametrul definit de utilizator.

REF 14-HB936-200



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



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.

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



Legendă simboluri

A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ) **LOT** Cod lot și serie **REF** Număr catalog

Producător Limite de temperatură Consultați instrucțiunile de utilizare

IVD Dispozitiv medical pentru diagnostic *In vitro*

Rx Only: Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală