



Pointe Total Bilirubin Reagent Set

HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Phone: 734-487-8300; (800) 445-9853



Przeznaczenie

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

Historia metody

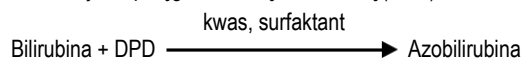
Od czasu wprowadzenia metody diazowej do oznaczania bilirubiny przez Ehrlicha w 1883 r.¹ zaproponowano kilka modyfikacji w celu usprawnienia reakcji. Metoda Malloya i Evelyn² wykorzystuje metanol do katalizowania reakcji sprzężenia azowego bilirubiny pośredniej, jak również do utrzymywania azobilirubiny 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 sprzężeniu 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 sprzężana 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 odczynników

Odczynniki dostarczane w postaci gotowych do użycia płynów..

Przechowywanie i stabilność odczynników

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

Pogorszenie jakości odczynników

1. Nie używać, jeśli odczynniki wykazują oznaki zanieczyszczenia (mętność)
2. R2 może wytrącać się bardzo słabo, co nie ma wpływu na wydajność i rozpuści się ponownie, jeśli R2 zostanie delikatnie ogrzany.
3. Nie należy stosować odczynnika R2 zawierającego osad, który nie ulega ponownemu rozpuszczeniu i powoduje odbarwienie produktu.
4. Nie używać, jeśli odczynnik nie osiąga wyznaczonych wartości testu świeżych surowic kontrolnych.

Środki ostrożności

1. Odczynniki są toksyczne i żrące. Nie pipetować ustami. Unikaj kontaktu ze skórą i odzieżą.
2. 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. **ZATRUCIE** P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. **Reagowanie:** P310: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM 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. Splucz 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-HB979) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.**



Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Zaleca się świeżą, niezhemolizowaną surowicę.
2. Próbkę 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
3. Bilirubina w surowicy jest stabilna przez trzy miesiące, jeśli jest przechowywana w stanie zamrożonym (-20°C) i chroniona przed światłem.⁵
4. Bezpośrednie światło słoneczne może spowodować spadek bilirubiny nawet o 50% w ciągu godziny.⁶
5. 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

1. Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS nr EP7-P dotyczących badań interferencji w chemii klinicznej.⁷
2. Wykazano, że hemoglobina w surowicy wpływa na wyniki. Stężenie triglicerydów w surowicy do 1000 mg/dl nie wpływa na wyniki.
3. Wiele leków i substancji wpływa na wyniki bilirubiny. Patrz Young i wsp.⁸

Pointe Total Bilirubin Reagent Set

Materiały wymagane

Total Bilirubin R1 reagent, Total Bilirubin R2 reagent

Materiały wymagane, niedostarczane

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 7 dni.

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. Kontrole jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Ograniczenia

1. Próbkę o wartościach powyżej 30 mg/dl należy rozcieńczyć izotonicznym roztworem soli w stosunku 1:1, ponownie oznaczyć i wynik końcowy pomnożyć przez dwa.
2. Stężenie triglicerydów w surowicy do 1000 mg/dl nie wpływa na wyniki.
3. Wykazano, że poziomy hemoglobiny w surowicy wpływają na wyniki.

Charakterystyka

1. Zakres testu: 0.0-30.0 mg/dl
2. Porównanie: przeprowadzono badanie Yumizen C560 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskano następujące dane:

Metoda	Bilirubina całkowita
N	149
Średnia Bilirubina całkowita (mg/dL)	4.38
Zakres (mg/dL)	0.0-29.7
Odchylenie standardowe	7.18
Regresja	$y = 0.988x + 0.12$
Współczynnik korelacji	0.9940

3. Precyzja: Badania precyzji wykonano analizatorem Yumizen C560 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie EP5-T2.⁹

Próbka	W ciągu dnia			Całkowita		
	NISKA	SREDNIA	WYSOKA	NISKA	SREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20	40	40	40
Średnia	0.70	4.33	21.38	0.87	4.34	22.04
Odchylenie standardowe	0.00	0.09	0.20	0.07	0.16	0.71
Współczynnik wariancji (%)	0.0%	2.1%	0.9%	8.3%	3.8%	3.2%

4. Czulość: granica wykrywalności 2 SD (95% konf.) = 0,0 mg/dL = 0.0 mg/dL

Wartości oczekiwane¹⁰

Razem: Dorosli i niemowlęta 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
3-5 dni:	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. Jendrossik, 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)



Pointe Total Bilirubin Reagent Set

HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Phone: 734-487-8300; (800) 445-9853



PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	TBIL	Nr.:	207	Typ próbki:	Surowica	
Nazwa chem:	Bilirubina całkowita			Wydruk:	TBIL	
Rodzaj reakcji:	Punktu końcowego			Kierunek reakcji:	Rosnąca	
I dł. fali:	546			II dł. fali:	605	
Jednostka:	mg/dL			Miejsca dziesiętne:	0.1	
Cykl pomiaru próby ślepej:	47	49		Cykl pomiaru próbki:	80	82
	Obj. próbki.	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rozcieńczalnik	
Podstawowa:	2.0 ul	--- ul	--- ul	R1:	120 ul	--- ul
Zmniejszona:	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	31 ul	-- ul
Zwiększona:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul	-- ul
	<input type="checkbox"/> Próba ślepa	<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.		R4:	--- ul	--- ul

Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0
Zakres liniowości (podstawowy)	0 30
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:

