

## Utilizarea prevăzută

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

## Istoricul metodei

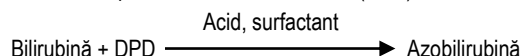
De la introducerea metodei diazo pentru determinarea bilirubinei de către Ehrlich în 1883<sup>1</sup>, au fost propuse câteva modificări pentru a îmbunătăți reacția. Metoda Malloy și Evelyn<sup>2</sup> folosește metanol pentru a cataliza reacția de azocuplare a bilirubinei indirecte, precum și pentru 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.<sup>3</sup> 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.<sup>4</sup> Se utilizează un detergent pentru a accelera reacția și a evita precipitarea proteinelor. 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 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

Reactiv R1 bilirubină totală: soluție tampon acidă 50 mmol/L, surfactant. 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 și stabilitatea reactivilor

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. 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 (turbiditate)
2. R2 poate dezvolta o precipitare foarte ușoară care nu afectează performanța și se rezolvă atunci când R2 este încălzit ușor.
3. Reactivul R2 care conține un precipitat care nu se rezolvă 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*.

## Pericole:

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

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

**Fraze de precauție:** 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. **Reacția:** 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:** P501: 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-HB979) disponibilă prin apel la 1-734-487-8300.**



**Cuvânt de avertizare:** Pericol

## Recoltarea și depozitarea speciemenelor

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.<sup>5</sup>
3. Bilirubina din ser este stabilă timp de trei luni dacă este congelată (-20°C) și protejată de lumină.<sup>5</sup>
4. Lumina directă a soarelui poate determina o scădere de până la 50% a bilirubinei în decurs de o oră.<sup>6</sup>
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.

# Pointe Total Bilirubin Set de reactivi

## Interacțiuni

1. Toate studiile de interferență au fost efectuate conform procedurilor recomandate în ghidul NCCLS nr. EP7-P pentru testarea interferențelor în chimia clinică.<sup>7</sup>
2. S-a constatat că hemoglobina serică interferează cu rezultatele. Nivelurile serice de trigliceride până la 1 000 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
3. O serie de medicamente și substanțe afectează rezultatele bilirubinei. Consultați Young et al<sup>8</sup>

## Materiale furnizate

Reactiv R1 bilirubină totală, reactiv R2 bilirubină totală

## Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Analizorul Yumizen C560
2. Manualul de utilizare 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 7 zile.

## 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. Trigliceridele serice până la 1000 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
3. S-a constatat că nivelurile de hemoglobină serică interferează cu rezultatele.

## Performanță

1. Interval test: 0,0-30,0 mg/dL
2. Comparație: S-a realizat un studiu comparativ între Yumizen C560 și un analizor similar cu această metodă, cu următoarele rezultate:

Metodă	Total Bilirubin
N	149
Bilirubină totală medie (mg/dL)	4,38
Interval (mg/dL)	0,0-29,7
Abaterea standard	7,18
Analiza regresiei	$y = 0.988x + 0.12$
Coefficient de corelare	0,9940

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.<sup>9</sup>

Probă	În cursul zilei		
	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ
N	20	20	20
Medie	0,70	4,33	21,38
Abaterea standard	0,00	0,09	0,20
Coefficient de variație (%)	0,0%	2,1%	0,9%

Probă	Total		
	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ
N	40	40	40
Medie	0,87	4,34	22,04
Abaterea standard	0,07	0,16	0,71
Coefficient de variație (%)	8,3%	3,8%	3,2%

4. Sensibilitate: 2 SD limita de detecție (CI 95%) = 0,0 mg/dL

## Valori așteptate<sup>10</sup>

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. 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. Documentul NCCLS „National Evaluation Protocols for Interference Testing”, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (iunie 1984).
8. Young, D.S., Effects of Preamalytical 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, 3<sup>rd</sup> Ed., p. 1170 (1999)

**PARAMETRI CHIMICI**

Chem:	TBIL	Nr.:	207	Tip probă:	Ser
Chimie:	Bilirubina totală	Denumire:	TBIL		
Tip reacție:	Punct final	Direcție reacție:	Pozitiv		
Undă primară:	546	Undă secundară:	605		
Unitate:	mg/dL	Zecimal	0,1		
Timp martor:	47      49	Timp reacție:	80      82		
	Volum probă	Aspirat	Diluant	Volum reactiv	Diluant
Standard:	2,0 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
<b><u>Ajustare pantă/decalaj</u></b>					
Pantă: 1		Decalaj: 0			

Interval linearitate (Standard)	0	30	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 Total Bilirubin Set de reactivi

## PARAMETRI CALIBRARE

<b>Definire soluție de calibrare</b>						
Soluție de calibrare:	*	Nr. lot:	*			
Data expirării:	*					
<b>Carusel</b>	<b>Poz</b>					
Carusel probă 1	*					
Carusel probă 2						
Carusel probă 3						
<b>Reactiv/Calibrare</b>						
<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	*	*	TBIL	0	mg/dL
Calibrator de chimie	*	*	*	TBIL	*	mg/dL
<b>Configurare calibrare</b>						
Chem:	TBIL					
<u>Setări calibrare</u>						
Model matematic:	Liniar în două puncte					
Factor:	Repetări: 2					
<u>Limite de acceptanță</u>						
Timp Cal:	168	Oră				
Dif. pantă:	---	SD:	---			
Sensibilitate:	---	Repetabilitate:	---			
Coef. Deter:	---					
<u>Calib. automată</u>						
<input type="checkbox"/> Flacon schimbat	<input type="checkbox"/> Lot schimbat	<input type="checkbox"/> Timp Cal				

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

**REF** 14-HB979-365



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