

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

REF A11A01635

REAGENT 1 24 mL

REAGENT 2 7 mL



IVD CE

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE



■ Pentra C400

Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* della bilirubina diretta in siero o in plasma mediante colorimetria.

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: Bili-D

1.xx

Uso previsto ^a

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP è un reagente destinato alla determinazione diagnostica quantitativa *in vitro* della bilirubina diretta nel siero e nel plasma umani sulla base di un test fotometrico con 2,4-dicloroanilina (DCA). Le misurazioni dei livelli di bilirubina (diretta o totale), un composto organico che si forma durante la distruzione normale o patologica dei globuli rossi, vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento dei disturbi epatici, emolitici, ematologici e del metabolismo, incluse le epatiti e il blocco della vescichetta biliare.

Interesse clinico (1, 2)

La bilirubina è un prodotto di degradazione dell'emoglobina. La bilirubina libera non coniugata è estremamente apolare ed essenzialmente non idrosolubile e forma pertanto un complesso con l'albumina per il trasporto nel sangue dalla milza al fegato. Nel fegato, la bilirubina viene coniugata con l'acido glucuronico: i risultanti glucuronidi coniugati con bilirubina idrosolubile vengono escreti tramite i dotti biliari.

L'iperbilirubinemia può essere causata da un aumento nella produzione di bilirubina dovuto a emolisi (ittero pre-epatico), da danni ai tessuti parenchimatici del fegato (ittero epatico) o dall'occlusione dei dotti biliari (ittero post-epatico). Un'iperbilirubinemia cronica congenita (prevalentemente non coniugata), conosciuta come

sindrome di Gilbert, è piuttosto frequente nella popolazione. Elevati livelli di bilirubina totale si osservano nel 60-70% dei neonati a causa di un aumento post-parto della degradazione degli eritrociti e a seguito di un ritardo nel funzionamento degli enzimi per la degradazione della bilirubina. I comuni metodi relativi alla bilirubina individuano la bilirubina totale o la bilirubina diretta. Le determinazioni della bilirubina diretta rilevano principalmente la bilirubina coniugata idrosolubile. È quindi possibile considerare la bilirubina non coniugata come la differenza tra la bilirubina totale e quella diretta.

Metodo (3)

Test fotometrico mediante 2,4-dicloroanilina (DCA). In presenza di 2,4-dicloroanilina diazotata, la bilirubina diretta forma un composto azotato di colore rosso in soluzione acida.

Reagenti

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP è pronto per l'uso.

Reagente 1:

EDTA-Na ₂	0,1 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
Acido sulfamico	100 mmol/L

Reagente 2:

Sale di diazonio di 2,4 diclorofenile	0,5 mmol/L
HCl	900 mmol/L
EDTA-Na ₂	0,13 mmol/L

^aModifica: nuova forma del foglio illustrativo.

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione

1. Rimuovere entrambi i coperchi della cassetta.
2. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
3. Collocare il coperchio protettivo (GBM0969) sulla cassetta.
4. Collocare la cassetta nel comparto reagenti refrigerato.

Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

ABX Pentra Multical (A11A01652) (non incluso)
10 x 3 mL (liofilizzato)

Controllo ^b

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

Materiali necessari non in dotazione ^b

- Analizzatore automatico di chimica clinica:
Pentra C400

- Calibratore: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlli:
ABX Pentra N MultiControl (1300054414)
ABX Pentra P MultiControl (1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

Campione ^c

La popolazione a cui è destinato questo dispositivo è la popolazione generale.

- Siero.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA Medical. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

Stabilità (4, 5, 1)

- A 20-25°C: 2 giorni
- A 4-8°C: 7 giorni
- A -20°C: 6 mesi (in caso di congelamento immediato)

È estremamente importante conservare i campioni al riparo dalla luce.

In caso di forte esposizione ai raggi solari: la bilirubina totale diminuisce fino al 30% dopo 1 ora. Congelare una volta sola.

Range di riferimento (1) ^d

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Adulti e bambini: $\leq 0,2$ mg/dL ($\leq 3,4$ μ mol/L).

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Questo è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

^bModifica: il controllo è stato rimosso.

^cModifica: modifica del paragrafo "Campione".

^dModifica: aggiunta di informazioni.

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

Conservazione e stabilità

Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C.

Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con Pentra C400".

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

Precauzioni di carattere generale ^e

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*.
Per uso in laboratorio.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Attenzione**
H290: Può essere corrosivo per i metalli.
P234: Conservare soltanto nel contenitore originale.
P390: Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.
P406: Conservare in recipiente resistente alla corrosione provvisto di rivestimento interno resistente.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
- Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA Medical prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.

- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro ^f

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra che la variabilità da inter-lotto rientra entro i limiti delle specifiche.

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA Medical.

Numero di analisi: 100 analisi

Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di Pentra C400 è stabile per 30 giorni.

Volume del campione: 25 µL/test

Limite di rilevabilità ^g

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (6) ed equivale a 0,41 µmol/L (0,02 mg/dL).

Limite di quantizzazione ^h

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (6) ed equivale a 2,70 µmol/L (0,16 mg/dL).

^eModifica: modifica delle precauzioni di carattere generale.

^fModifica: aggiunta di un capitolo.

^gModifica: modifica del limite di rilevamento.

^hModifica: aggiunta di dati.

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

Accuratezza e precisione

Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (7) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio µmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	15,33	0,90	0,67
Campione di controllo 2	31,64	1,85	0,44
Campione 1	4,01	0,23	3,23
Campione 2	25,92	1,52	0,59
Campione 3	134,63	7,88	2,69

Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (8) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 2 campioni (livelli medi / alti)

	Valore medio µmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	16,0	0,94	4,26
Campione di controllo 2	34,9	2,02	4,22
Campione 1	11,7	0,69	3,27
Campione 2	65,4	3,83	2,98

Intervallo di misurazione ⁱ

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 2,7 µmol/L (0,16 mg/dL) e 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL).

Con la post-diluizione automatica, l'intervallo di misurazione viene esteso fino a 580 µmol/L (33,90 mg/dL).

La linearità del reagente è stata valutata fino a 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL) secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), - Ed2 (9).

Correlazione ^j

Campioni di pazienti: Siero e plasma

Numero di campioni paziente: 92

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c protocol (10).

I valori presentano variazioni comprese tra 2,75 µmol/L (0,16 mg/dL) e 115,13 µmol/L (6,74 mg/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (11):

$$Y = 1,026 X + 1,3 \text{ (µmol/L)}$$

$$Y = 1,026 X + 0,076 \text{ (mg/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,992$.

Interferenze ^k

Emoglobina: Non utilizzare campioni emolizzati.

Trigliceridi: Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 4,51 mmol/L (395 mg/dL).

N-acetil-p-benzochinoneimina (NAPQI): Nessuna influenza significativa osservata fino a 125 µmol/L (1,86 mg/dL).

Eltrombopag: Non eseguire questo dosaggio se il paziente è in terapia con Eltrombopag.

Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (12, 13).

Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 10 giorni.

Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.

Fattore di conversione

$$\mu\text{mol/L} \times 0,585 = \text{mg/L}$$

$$\mu\text{mol/L} \times 0,0585 = \text{mg/dL}$$

ⁱModifica: modifica dell'intervallo di misurazione.

^jModifica: modifica della correlazione.

^kModifica: modifica delle interferenze.

ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

Bibliografia

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 1125-1177.
3. Rand RN, Di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) **6**: 570-8.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag, (2001): 18-19.
5. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.
6. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
7. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
8. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
9. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
10. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
11. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
13. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

