

**REF** A11A01635

**REAGENT 1** 24 mL

**REAGENT 2** 7 mL



**IVD**

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



# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

■ Pentra C400

**Odczynnik diagnostyczny do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia bilirubiny bezpośredniej w surowicy krwi lub osoczu metodą kolorymetryczną.**

## Wersja aplikacji

### Surowica, osocze: Bili-D

1.xx

## Zastosowanie <sup>a</sup>

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** odczynnik jest przeznaczony do ilościowego diagnostycznego oznaczenia *in vitro* bilirubiny bezpośredniej w surowicy i osoczu człowieka na podstawie testu fotometrycznego z użyciem 2,4-dichloroaniliny (DCA). Pomiary stężenia bilirubiny (bezpośredniej lub całkowitej), organicznego związku powstającego podczas prawidłowego i patologicznego rozpadu krwinek czerwonych, wykorzystywane są w diagnostyce i leczeniu schorzeń wątroby, chorób hemolitycznych, hematologicznych i metabolicznych, w tym zapalenia wątroby i kamicy pęcherzyka żółciowego.

## Aspekty kliniczne (1, 2)

Bilirubina to związek powstały w wyniku rozpadu hemoglobiny. Wolna, niezwiązana bilirubina jest wysoce niepolarna i prawie nierozpuszczalna w wodzie. Tworzy kompleks z albuminą, przechodząc we krwi ze śledziony do wątroby. W wątrobie bilirubina wiąże się z kwasem glukuronowym, tworząc rozpuszczalne w wodzie glukuronidy bilirubiny, które następnie są wydalane przez drogi żółciowe.

Hiperbilirubinemia może być spowodowana przez zwiększone wytwarzanie bilirubiny związane z hemolizą (żółtaczką hemolityczną), uszkodzenie miąższu wątroby

(żółtaczką miąższową) oraz niedrożność dróg żółciowych (żółtaczką mechaniczną). Przewlekła, wrodzona (przeważnie niezwiązana) hiperbilirubinemia, tzw. zespół Gilberta, jest dość często występującym schorzeniem. Wysokie stężenie bilirubiny całkowitej obserwuje się u 60-70% noworodków. Jest to związane z podwyższonym poporodowym rozpadem erytrocytów oraz opóźnioną reakcją enzymów odpowiedzialnych za rozkład bilirubiny. Powszechnie stosowane metody pozwalają na wykrycie bilirubiny całkowitej lub bilirubiny bezpośredniej. W oznaczeniach bilirubiny bezpośredniej mierzy się przede wszystkim bilirubinę związaną, rozpuszczalną w wodzie. Poziom bilirubiny niezwiązanej wyznacza się jako różnicę pomiędzy bilirubiną całkowitą a bezpośrednią.

## Metoda (3)

Metoda fotometryczna z zastosowaniem 2,4-dichloroaniliny (DCA). Bilirubina bezpośrednia w obecności diazowanej 2,4-dichloroaniliny w roztworze kwaśnym tworzy zabarwiony na czerwono związek azowy.

## Odczynniki

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** jest odczynnikiem gotowym do użycia.

### Reagent 1:

EDTA-Na <sub>2</sub>	0,1 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
Kwas amidosulfonowy	100 mmol/L

<sup>a</sup>Modyfikacja: nowy format ulotki.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Reagent 2:

Sól 2,4-dichlorofenyldiazoniowa	0,5 mmol/L
HCl	900 mmol/L
EDTA-Na <sub>2</sub>	0,13 mmol/L

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** należy używać zgodnie z niniejszą ulotką. Producent nie może zagwarantować właściwego działania produktu, jeżeli zostanie on użyty w sposób inny od podanego.

## Postępowanie z preparatem

1. Wyjmij obie zatyczki kasety.
2. Jeżeli odczynnik zawiera pianę, usuń ją za pomocą plastikowej pipety.
3. Załóż na kasetę zatyczkę ochronną (GBM0969).
4. Umieść kasetę w odpowiedniej chłodzonej komorze odczynnikowej.

## Kalibrator

Do celów kalibracji należy używać:

**ABX Pentra Multical** (A11A01652) (nie dołączono)  
10 x 3 mL (liofilizat)

## Kontrola <sup>b</sup>

Do wewnętrznej kontroli jakości należy używać:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (do oddzielnego zakupu)  
10 x 5 mL (liofilizat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (do oddzielnego zakupu)  
10 x 5 mL (liofilizat)

Oznaczenie kontroli powinno być przeprowadzane raz dziennie i/lub po wykonaniu kalibracji.

Częstość przeprowadzania kontroli oraz przedziały ufności powinny być ustalone w oparciu o wytyczne laboratoryjne oraz przepisy obowiązujące w danym kraju. Należy przestrzegać krajowych, regionalnych i lokalnych wytycznych dotyczących materiałów do kontroli jakości. Wynik kontroli musi zawierać się w zdefiniowanych przedziałach ufności. Każde laboratorium powinno wypracować sposób postępowania w przypadku, gdy wyniki wykrócą poza wyznaczone przedziały.

<sup>b</sup>Modyfikacja: usunięto kontrolę.

<sup>c</sup>Modyfikacja: modyfikacja rozdziału „Próbka”.

<sup>d</sup>Modyfikacja: dodano informacje.

## Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu <sup>b</sup>

- Zautomatyzowany kliniczny analizator biochemiczny: Pentra C400
- Kalibrator: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Kontrole:  
**ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)  
**ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Standardowy sprzęt laboratoryjny.

## Próbka <sup>c</sup>

Populacją testowaną dla tego wyrobu jest populacja ogólna.

- Surowica.
- Osocze pobrane z heparyną litową.

Firma HORIBA Medical nie prowadziła testów dla antykoagulantów innych niż wymienione na liście i w związku z tym nie zaleca ich używania dla potrzeb tego oznaczenia.

## Stabilność (4, 5, 1)

- W temperaturze 20–25°C: 2 dni
- W temperaturze 4–8°C: 7 dni
- W temperaturze -20°C: 6 miesięcy (w przypadku natychmiastowego zamrożenia)

Należy dopilnować, aby próbki były przechowywane bez dostępu światła!

W przypadku wystawienia na silne promieniowanie słoneczne: zmniejszenie się ilości bilirubiny całkowitej do 30% po upływie 1 godziny.

Zamrażać tylko raz.

## Zakres norm (1) <sup>d</sup>

Każde laboratorium powinno wypracować swoje własne zakresy odniesienia. Wartości podane w niniejszej ulotce mają wyłącznie charakter orientacyjny.

**Dorośli i dzieci:** ≤ 0,2 mg/dL (≤ 3,4 μmol/L).

Dla tego analitu rzadko zgłasza się czułość i swoistość kliniczną, dodatnią wartość predykcyjną i negatywną wartość predykcyjną. Jest to głównie spowodowane

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

faktem, że ten analit nie stanowi jedyne go wskaźnika w zakresie wyznaczonego celu i podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjenta. W celu postawienia diagnozy i zaplanowania leczenia należy użyć wyników innych rutynowych testów biochemicznych w połączeniu z innymi informacjami diagnostycznymi oraz oceną stanu pacjenta wykonaną przez specjalistę opieki służby zdrowia.

## Przechowywanie i stabilność

### Stabilność przed otwarciem:

Zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie pod warunkiem przechowywania w temperaturze 2-8°C.

### Stabilność po otwarciu:

Przejdź do rozdziału „Wydajność przy użyciu w analizatorze Pentra C400”.

Nie zamrażać.

## Postępowanie z odpadami

Należy postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.

## Ogólne środki ostrożności <sup>e</sup>

- Niniejszy odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.  
Do użytku laboratoryjnego.
- Wyłącznie do stosowania z przepisu lekarza.
- Ten odczynnik został sklasyfikowany jako szkodliwy w rozumieniu rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.
- **Ostrzeżenie**  
**H290:** Może powodować korozję metali.  
**P234:** Przechowywać wyłącznie w oryginalnym pojemniku.  
**P390:** Usunąć wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.  
**P406:** Przechowywać w pojemniku odpornym na korozję o odpornej powłoce wewnętrznej.
- Przy pracy należy stosować standardowe laboratoryjne środki ostrożności.
- Kasety odczynnikowe są kasetami jednorazowego użytku, należy je utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.

- Należy uważnie zapoznać się z kartą charakterystyki (MSDS) dołączoną do odczynnika.
- Nie używać produktu, jeżeli można zaobserwować zmianę jego cech biologicznych, chemicznych lub fizycznych, co wskazuje na jego nieprzydatność do użytku.
- Nie należy używać tego produktu w przypadku nieprzestrzegania warunków magazynowania, w tym w zakresie temperatury.
- Przed przystąpieniem do obsługi urządzenia użytkownik musi zostać przeszkolony przez przedstawiciela firmy HORIBA Medical.
- Użytkownik ma obowiązek sprawdzić, czy niniejszy dokument dotyczy używanego w danym przypadku odczynnika.
- W celu uzyskania pomocy technicznej zadzwoń pod numer +33 (0)4 67 14 15 16.
- Każdy poważny incydent wynikający ze stosowania wyrobu należy zgłaszać producentowi i organowi kraju właściwemu dla miejsca pobytu użytkownika lub pacjenta.

## Wydajność przy użyciu w analizatorze Pentra C400

### Zmienność między seriami <sup>f</sup>

Odzysk próbek (surowicy i osocza) wykonany podczas zwolnienia QC trzech kolejnych serii odczynnika wskazuje, że zmienność między seriami jest zgodna ze specyfikacją.

### Surowica, osocze

Dane przedstawione poniżej to wartości uzyskiwane na analizatorach HORIBA Medical.

**Liczba oznaczeń:** 100 oznaczeń

### Stabilność robocza odczynników

Po otwarciu kasety z odczynnikami umieszczona w chłodzonej komorze analizatora Pentra C400 zachowuje stabilność przez 30 dni.

**Objętość próbki:** 25 µL/test

### Wykrywalność <sup>g</sup>

Granice wykrywalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (6) i wynosi ona 0,41 µmol/L (0,02 mg/dL).

<sup>e</sup>Modyfikacja: modyfikacja opisu ogólnych środków ostrożności.

<sup>f</sup>Modyfikacja: dodano rozdział.

<sup>g</sup>Modyfikacja: zmiana granicy wykrywalności.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Granica oznaczalności<sup>h</sup>

Granice oznaczalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (6) i wynosi ona 2,70 µmol/L (0,16 mg/dL).

## Trafność i precyzja

### Powtarzalność (precyzja oznaczenia)

Powtarzalność wg zaleceń procedury Valtec (7) z próbkami poddawanymi 20 oznaczeniom:

- 2 kontrole
- 3 próbek (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia µmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	15,33	0,90	0,67
Próbka kontrolna 2	31,64	1,85	0,44
Próbka 1	4,01	0,23	3,23
Próbka 2	25,92	1,52	0,59
Próbka 3	134,63	7,88	2,69

### Odtwarzalność (precyzja wewnątrzlaboratoryjna)

Odtwarzalność wg zaleceń CLSI (NCCLS), procedura EP5-A2 (8) z próbkami poddawanymi podwójnym oznaczeniom przez 20 dni (2 serie dziennie):

- 2 kontrole
- 2 próbek (poziomy średnie / wysokie)

	Wartość średnia µmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	16,0	0,94	4,26
Próbka kontrolna 2	34,9	2,02	4,22
Próbka 1	11,7	0,69	3,27
Próbka 2	65,4	3,83	2,98

## Zakres pomiaru<sup>i</sup>

Analiza potwierdziła zakres pomiaru od 2,7 µmol/L (0,16 mg/dL) do 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL).

Zakres pomiaru jest rozszerzony do 580 µmol/L (33,90 mg/dL) z automatycznym rozcieńczeniem następczym.

Liniowość odczynnika została oceniona do 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL) zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP06-Ed2 (9).

## Korelacja<sup>j</sup>

Próbki pobrane od pacjenta: Surowica i osocze

Liczba próbek pobranych od pacjenta: 92

Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP09c (10).

Wartości zawierały się w przedziale od 2,75 µmol/L (0,16 mg/dL) do 115,13 µmol/L (6,74 mg/dL).

Równanie dla otrzymanej linii allometrycznej (11) jest następujące:

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

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

przy współczynniku korelacji  $r^2 = 0,992$ .

## Czynniki zakłócające<sup>k</sup>

Hemoglobina: Nie używać próbek hemolizowanych.

Triglicerydy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do stężenia triglicerydów 4,51 mmol/L (395 mg/dL).

N-acetylo-p-benzochinonoimina (NAPQI): Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 125 µmol/L (1,86 mg/dL).

Eltrombopag: Nie używać tego preparatu, jeśli pacjentowi podawany jest eltrombopag.

*Young podaje także inne ograniczenia, a w szczególności listę leków oraz zmiennych przedanalizy, które według obecnego stanu wiedzy wpływają na wyniki tej metody (12, 13).*

## Stabilność kalibracji

Odczynnik jest kalibrowany w dniu 0. Stabilność kalibracji jest kontrolowana przez wykonanie testów na 2 próbkach kontrolnych.

Stabilność kalibracji wynosi 10 dni.

*Uwaga: Ponowną kalibrację odczynnika zaleca się w przypadku zmiany jego serii oraz w przypadku, gdy wyniki kontroli jakości wykrócą poza założony zakres.*

<sup>h</sup>Modyfikacja: dodano dane.

<sup>i</sup>Modyfikacja: modyfikacja zakresu pomiaru.

<sup>j</sup>Modyfikacja: modyfikacja informacji dot. korelacji.

<sup>k</sup>Modyfikacja: modyfikacja zakłóceń.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Współczynnik konwersji

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

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

## Piśmiennictwo

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1<sup>st</sup> 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. 3<sup>rd</sup> 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. 1<sup>st</sup> 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, 2<sup>nd</sup> 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. 2<sup>nd</sup> Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
10. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3<sup>rd</sup> 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. 4<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
13. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2<sup>nd</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

