

Uso previsto

Determinazione quantitativa della bilirubina diretta nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

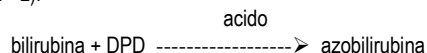
Nel 1883,¹ Ehrlich presentò il metodo diazoico per la misurazione della bilirubina. Da allora sono state proposte numerose modifiche per migliorare la reazione. Il metodo di Malloy e Evelyn² utilizza il metanolo per catalizzare la reazione di accoppiamento azoico della bilirubina indiretta e per mantenere in soluzione l'azobilirubina. Questo metodo presenta un grave svantaggio: le proteine possono essere fatte precipitare dalla soluzione di metanolo, producendo risultati falsamente bassi.

Nel 1938, Jendrassik e Grof.³ presentarono un test che dava risultati affidabili. Si tratta, però, di un metodo macchinoso, che comporta diverse fasi di pipettaggio.

Il metodo presentato in questa sede è stato elaborato da Wahlefeld et al.⁴ Il reagente diazoico è il 2,5-diclorofenildiazonio tetrafluoroborato (DPD) che, in condizioni acide, reagisce molto rapidamente accoppiandosi con la bilirubina. La procedura che ne risulta è semplice, ma presenta una buona correlazione se confrontata con il metodo di Jendrassik e Grof.

Principio

La bilirubina diretta si accoppia con un sale di diazonio (DPD) in un mezzo fortemente acido (pH 1 - 2).



L'intensità del colore dell'azobilirubina prodotta è proporzionale alla concentrazione di bilirubina diretta e può essere misurata fotometricamente.

Reagenti

1. Reagente R1 per bilirubina: tampone acido 50 mmol/L
2. Reagente R2 per bilirubina diretta: tampone acido >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD e stabilizzatori

Precauzioni

1. I reagenti sono tossici e corrosivi. Non pipettare per bocca. Evitare il contatto con la pelle e gli indumenti.
2. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti sotto forma di pronto all'uso.

Conservazione dei reagenti

1. Conservare i reagenti ancora confezionati a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.
2. Non congelare i reagenti.
3. Evitare di esporli alla luce diretta.

Deterioramento dei reagenti

1. Non utilizzare i reagenti se presentano tracce di contaminazione microbica (torbidità).
2. Se il reagente R2 sviluppa una leggerissima precipitazione che si dissolve quando viene leggermente riscaldato, è possibile utilizzarlo.
3. Se il reagente R2 contiene un precipitato che non si dissolve e provoca una decolorazione del prodotto, non va utilizzato.
4. Non utilizzare il reagente se non raggiunge i valori assegnati ai controlli di siero fresco.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. Si raccomanda di prelevare siero fresco, non emolizzato.⁵
2. I campioni devono essere analizzati entro due ore dal prelievo se conservati a temperatura ambiente e al buio, oppure entro dodici ore se conservati in frigorifero (2-8°C) e al riparo dalla luce.⁶
3. La bilirubina nel siero resta stabile per tre mesi se conservata in congelatore (-20°C) e al riparo dalla luce.⁶
4. La luce diretta del sole può far diminuire la bilirubina fino al 50% nell'arco di un'ora.⁷

5. Il prelievo dei campioni va eseguito in conformità con le linee guida indicate nel documento NCCLS M29-T2. Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Interferenze

1. Tutti gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti applicando le procedure raccomandate dalle linee guida NCCLS n. EP7-P per i test di interferenza in chimica clinica.⁸
2. Livelli di emoglobina nel siero fino a 100 mg/dl non interferiscono con i risultati.
3. Livelli di trigliceridi nel siero fino a 500 mg/dl non interferiscono con i risultati.
4. Numerosi farmaci e sostanze alterano l'attività risultati. Si veda Young, et al.⁹

Materiali in dotazione

Reagenti R1 e R2 per bilirubina diretta

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240.
2. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240.
3. Calibratore chimico Pointe, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico Pointe, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	DBIL	Sostanza chim.:	Bilirubina diretta
N. chim:	205	Nome etichetta:	Bilirubina diretta
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	546 nm	Lungh. d'onda sec.	670 nm
Decimale:	0,1	Tipo campione:	siero
T. bianco:	-2 -1	T. reazione:	3 4
Unità:	mg/dl	T. incubazione:	3

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	4	ul	ul	180	ul u
Decremento:		uL	uL	47	
Incremento:		ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard): 0.1-10	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: -40000 40000
Assorb. bianco R1: -40000 40000	Stabilità in macchina: 30 Giorni
Risposta bianco -40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	mg/dL	

