

Przeznaczenie

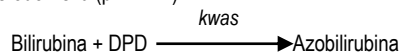
Do ilościowego oznaczania bilirubiny bezpośredniej w surowicy za pomocą analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
Rx Only.

Historia metody

Od czasu wprowadzenia metody diazowej do oznaczania bilirubiny przez Ehrlicha w 1883 r.¹ zaproponowano kilka modyfikacji usprawniających reakcję. Metoda Malloya i Evelyn² wykorzystuje metanol do katalizowania reakcji sprzężania azowego pośredniej bilirubiny, 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 Grof³ przedstawili test, który dał wiarygodne wyniki. Sposób ten jest jednak kłopotliwy i obejmuje kilka etapów pipetowania. Przedstawiona tutaj metoda została opracowana przez Wahlefelda i wsp.⁴ Odczynnikiem diazowym jest tetrafluoroboran 2,5-dichlorofenyldiazoniowy (DPD), który bardzo szybko reaguje sprzęgając z bilirubiną w środowisku kwaśnym. Otrzymana procedura jest prosta, ale wykazuje dobrą korelację w porównaniu z metodą Jendrassika i Grofa.

Zasada metody

Bilirubina bezpośrednia jest sprzężana z solą diazoniową (DPD) w silnie kwaśnym środowisku (pH 1 – 2).



Intensywność koloru wytwarzanej azobilirubiny jest proporcjonalna do stężenia bilirubiny bezpośredniej i może być mierzona fotometrycznie.

Odczynniki

- Odczynnik Direct Bilirubin R1: bufor kwasowy 50 mmol/L
- Odczynnik Direct Bilirubin R2: bufor kwasowy >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD i stabilizatory

Środki ostrożności

- Odczynniki są toksyczne i żrące. Nie pipetować ustami. Unikać kontaktu ze skórą i odzieżą.
- Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Przygotowanie odczynnika

Dostarczane odczynniki są gotowe do użycia.

Przechowywanie odczynnika

- Zapakowane odczynniki można przechowywać w temperaturze 2-8°C. Odczynnik jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, o ile jest przechowywany zgodnie z zaleceniami.
- Nie zamrażać odczynników.
- Unikać wystawiania na bezpośrednie działanie promieni słonecznych.

Degradacja odczynnika

- Nie używać, jeśli odczynniki wykazują oznaki zanieczyszczenia mikrobiologicznego (mętność).
- Jeśli z R2 wytrąca się bardzo nieznaczny osad, który rozpuszcza się ponownie po delikatnym ogrzaniu R2, można użyć odczynnika.
- Nie należy używać odczynnika R2 zawierającego osad, który nie ulega ponownemu rozpuszczeniu i powoduje odbarwienie produktu.
- Nie używać, jeśli odczynnik nie osiąga przypisanych wartości testu świeżych surowic kontrolnych.

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Zalecana jest świeża, niezhemolizowana surowica.⁵
- Próbki 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.⁶
- Bilirubina w surowicy jest stabilna przez trzy miesiące, jeśli jest przechowywana w stanie zamrożonym (-20°C) i chroniona przed światłem.⁶
- Bezpośrednie światło słoneczne może spowodować spadek bilirubiny nawet o 50% w ciągu godziny.⁷

- 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

- Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS nr EP7-P dotyczących badań interferencji w chemii klinicznej.⁸
- Poziomy hemoglobiny w surowicy do 100 mg/dl nie wpływają na wyniki.
- Stężenie triglicerydów w surowicy do 500 mg/dl nie wpływa na wyniki.
- Wiele leków i substancji wpływa na wyniki bilirubiny. Patrz Young i wsp.⁹

Materiały zapewnione

Odczynniki bezpośredniej bilirubiny R1 i R2

Materiały wymagane ale niedostarczane

- Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240.
- Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240.
- Kalibrator chemii Pointe, numer katalogowy C7506-50
- Kontrola Pointe Chemistry, numer katalogowy C7592-100

Parametry testu

Test:	DBIL	Nazwa chem:	Direct Bilirubin
Numer:	205	Wydruk:	Direct Bilirubin
Typ reakcji:	Punkt końcowy	Kierunek reakcji:	Rosnący
Dł. Fali I:	546 nm	Dł. Fali II:	670 nm
Miejsca dziesiętne:	0.1	Typ próbki:	Surowica
Próba ślepa:	-2 -1	Cykle reakcji:	3 4
Jednostka:	mg/dL	Cykle inkubacji:	3

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika	Rozcieńczalnik
Prawidłowa:	4	uL	uL	180	uL
Zmniejszona:		uL	uL	47	
Zwiększona:		uL	uL		

Zakres liniowości (Prawidłowy):	0.1-10	Limit liniowości:	
Zakres liniowości (Zmniejszony):		Zużycie substratu:	
Zakres liniowości (Zwiększony):		Mieszana abs. próby ślepej:	- 40000 40000
Abs. R1/próba ślepa:	- 40000 40000	Stabilność na pokładzie:	30 Dni
Próba ślepa:	- 40000 40000	Alarm limitu odczynnika:	5
Chemia bliźniacza:			

Efekt Prozone:

Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres:	Flagi:
Przesunięcie i nachylenie:	
Przesunięcie	Nachylenie
1	0
	Jednostka
	mg/dL

Pointe Direct Bilirubin Reagent Set

Przygotowanie:

Objętość próbki.: uL

Objętość odczynnika.: uL

Zakres referencyjny:

Typ próbki: Płeć: Zakres dla wieku: Zakres ref.: Wartości krytyczne: Jednostka:

Parametry kalibracji

Chem: D. Bili				
Ustawienia kalibracji				
Model: dwupunktowa liniowa				
Factor: Powtórzenia: 2				
Akceptowalne limity				
Ważność kalibracji: 336 godz.				
Różnica nachylenia: SD:				
Czułość: Powtarzalność: * Zdefiniowane przez użytkownika				
Współczynnik determinacji:				
Automatyczna kalibracja				
<input type="checkbox"/> Po upływie ważności kalib.				

Kalibracja

Użyj kalibratora surowicy identyfikowalnego przez NIST. 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.

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować, stosując surowice kontrolne ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami bilirubiny bezpośredniej. Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej podczas każdej zmiany roboczej, podczas której wykonywane są oznaczenia bilirubiny bezpośredniej. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Obliczenia (przykład)

Abs. = Absorbancja

Unk. = Nieznane

Cal. = Kalibrator

$\text{Abs. Unk.} - \text{Abs. Unk. Blank} \times \text{Conc. of Cal. (mg/dl)} = \text{Bilirubina bezpośrednia (mg/dl)}$
 $\text{Abs. Cal.} - \text{Abs. Cal. Blank}$

Próbka: Jeśli Abs. nieznane = 0.35, Abs. of Unknown Blank = 0.01, Abs. Kalibratora 0.25, Abs. of Calibrator Blank = 0.01, stężenie kalibratora = 4.0 mg/dl

Wtedy: $\frac{0.35 - 0.01}{0.25 - 0.01} \times 4 = \frac{0.34}{0.24} \times 4 = 5.7 \text{ mg/dl}$

Wartości oczekiwane (bezpośrednio)^{7,11}

Dorośli i niemowlęta (powyżej miesiąca): 0 – 0,5 mg/dl

Stanowczo zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres normy.

Ograniczenia

1. Próbki o wartości powyżej 10 mg/dl należy rozcieńczyć izotonicznym roztworem soli w stosunku 1:1, ponownie oznaczyć, a wynik końcowy pomnożyć przez dwa.
2. Poziomy hemoglobiny w surowicy do 100 mg/dl i triglicerydów do 500 mg/dl nie wpływają na wyniki.

Charakterystyka

1. Liniowość: 10,0 mg/dl
2. Granica wykrywalności (czułość): 0,1 mg/dl
3. Porównanie: przeprowadzono badanie analizatorów serii Yumizen 200 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, uzyskując współczynnik korelacji 0,999 z równaniem regresji $y=0,985x - 0,12$.

4. Precyzja: Badania precyzji wykonano analizatorami serii Yumizen 200 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.¹⁰

W ciągu dnia			Całkowita		
Średnia	S.D.	C.V.%	Średnia	S.D.	C.V.%
0.48	0.05	10.1	0.39	0.05	12.8
1.92	0.09	4.5	1.91	0.11	5.8

Piśmiennictwo

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. Michaelsson, M. Scand. J. Clin. Lab. Invest (Suppl. 49) 13:1 (1961)
6. Martinek, R.G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
7. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, P. 1028 (1976).
8. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
9. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACCPress, (1997)
10. NCCLS document, "Evaluations of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
11. Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

Symbole

Data przydatności (RRRR-MM-DD)	LOT Nr LOT i kod partii
REF Numer katalogowy	Producent
IVD Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

REF 12-HB936-156	Wyprodukowano przez HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		IVD
-------------------------	---	--	------------

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.