

Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă a bilirubinei directe în ser cu ajutorul analizatoarelor Yumizen C230 și Yumizen C240. Doar pentru diagnostic *in vitro*.
Rx Only.

Istoricul metodei

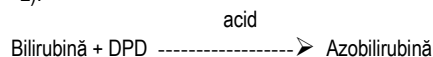
De la introducerea metodei diazo pentru determinarea bilirubinei de către Ehrlich în 1883¹, au fost propuse câteva modificări pentru a îmbunătăți reacția. Metoda Malloy și Evelyn² folosește metanol pentru a cataliza reacția de azocuplare a bilirubinei indirecte, precum și pentru a menține azobilirubina 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 Grof³ 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.⁴ Reactivul diazo este tetrafluoroboratul de 2,5-dicloro-fenil-diazoniu (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 directă 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 directă și poate fi măsurată fotometric.

Reactivi

1. Reactiv R1 bilirubină directă: soluție tampon acidă 50 mmol/L
2. Reactiv R2 bilirubină directă: soluție tampon acidă >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD și stabilizatori

Precauții

1. Reactivii sunt toxici și corozivi. Nu îi aspirați cu pipeta trăgând cu gura. Evitați contactul cu pielea și îmbrăcămintea.
2. Acest reactiv este doar pentru diagnostic *in vitro*.

Prepararea reactivului

Reactivii sunt furnizați gata de utilizare.

Depozitarea reactivului

1. Reactivii ambalați pot fi depozitați la 2-8°C. Dacă este depozitat conform instrucțiunilor, reactivul este stabil până la data de expirare indicată pe etichetă.
2. Nu congelați reactivii.
3. Evitați expunerea la lumina solară directă.

Deteriorarea reactivului

1. Nu utilizați reactivii dacă prezintă semne de contaminare microbiană (turbiditate).
2. Dacă R2 dezvoltă o precipitare foarte ușoară care se redizolvă atunci când R2 este încălzit ușor, se poate folosi reactivul.
3. Reactivul R2 care conține un precipitat care nu se redizolvă 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.

Recoltarea și depozitarea specimenelor

1. Se recomandă serul proaspăt, nehemolizat.⁵
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.⁶
3. Bilirubina din ser este stabilă timp de trei luni dacă este congelată (-20°C) și protejată de lumină.⁶
4. Lumina directă a soarelui poate determina o scădere de până la 50% a bilirubinei în decurs de o oră.⁷

5. Recoltarea specimenelor 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.

Interacțiuni

1. Toate studiile de interferență au fost efectuate conform procedurilor recomandate în ghidul NCCLS nr. EP7-P pentru testarea interferențelor în chimia clinică.⁸
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 100 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
3. Nivelurile serice de trigliceride până la 500 mg/dL nu interferează cu rezultatele.
4. O serie de medicamente și substanțe afectează rezultatele bilirubinei. Consultați Young et al⁹

Materiale furnizate

Reactivi pentru bilirubina directă R1 și R2

Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Analizorul Yumizen C230 / Yumizen C240.
2. Manualul de utilizare al analizorului Yumizen C230 / Yumizen C240.
3. Soluție de calibrare Pointe Chemistry, număr catalog C7506-50
4. Soluție de control Pointe Chemistry, număr catalog C7592-100

Parametrii testului

Test:	DBIL	Chimie:	Direct Bilirubin
Nr. chimie:	205	Denumire:	Direct Bilirubin
Tip reacție:	Punct final	Direcție reacție:	Pozitivă
Undă primară:	546 nm	Undă secundară:	670 nm
Zecimal:	0,1	Tip probă:	Ser
Timp martor:	-2 -1	Timp reacție:	3 4
Unitate:	mg/dL	Timp de incubare:	3

	Vol. probă	Aspirat	Diluant	Vol. reactiv	Diluant
Standard;	4	uL	uL	180	uL uL
Redus;		uL	uL	47	
Crescut;		uL	uL	uL	

Interval linearitate (Standard);	0,1-10	Limită linearitate:	
Interval linearitate (Redus);		Depleția substratului:	
Interval linearitate (Crescut);		Absorbanță martor amestecat:	- 40000 40000
Absorbanță martor R1:	- 40000 40000	Stabilitate în instrument:	30 Zi (zile)
Reacție martor	- 40000 40000	Limită de alarmă reactiv:	5
Chimie twin:			

Verificare prozonă:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizare rezultat cantitativ:		
Interval:		Marcaj:

Decalaj pantă:			
Decalaj		pantă	Unitate
1		0	mg/dL

Pointe Direct Bilirubin Set de reactivi

Tratare prealabilă:

Vol. probă pretrată: uL Vol. reactiv pretratat uL

Interval de referință:

Tip probă: Sex: Interval de vârstă: Interval de referință: Interval critic: Unitate:

Parametri configurare calibrare

Chem: D. Bili

Setare calibrare

Model matematic: Liniar în două puncte

Factor: Repetări: 2

Limite de acceptanță

Timp Cal: 336 hr.

Dif. pantă:

Sensibilitate:

Coef. Deter:

Calib. automată

SD:

Repetabilitate:

* Definit de utilizator

Timp Cal

Soluție de calibrare	Conc.	Poz	Nr. lot
Apă	0,0	W	
Cal. chimică	*	*	

Calibrarea

Utilizați o soluție de calibrare serică trasabilă NIST. 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.

Controlul calității

Validitatea reacției trebuie monitorizată prin utilizarea serurilor de control cu valori normale și anormale cunoscute ale bilirubinei directe. Aceste soluții de control trebuie procesate cel puțin o dată în fiecare tură de lucru în care se efectuează teste de bilirubină directă. 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.

Calcul (Exemplu)

Abs. = Absorbanță

Nec. = Necunoscut

Cal. = Soluție de calibrare

Abs. Nec. – Abs. Nec. Martor x Conc. de Cal. (mg/dL) = Bilirubină directă (mg/dL)

Abs. Cal. – Abs. Martor cal.

Probă: Dacă Abs. necunoscută = 0,35, Abs. martorului necunoscut = 0,01, Abs. soluției de calibrare 0,25, Abs. martorului de calibrare = 0,01, Concentrația soluției de calibrare = 4,0 mg/dL

Atunci: $\frac{0,35 - 0,01}{0,25 - 0,01} \times 4 = \frac{0,34}{0,24} \times 4 = 5,7$ mg/dL

Valori așteptate (directe)^{7,11}

Adulți și sugari (cu vârsta peste o lună): 0 – 0,5 mg/dL

Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval normal.

Limitări

1. Probele cu valori peste 10 mg/dL trebuie diluate 1:1 cu soluție salină izotonică, reprocessate, iar rezultatele trebuie înmulțite cu doi.
2. Nivelurile serice de hemoglobină până la 100 mg/dL și de trigliceride până la 500 mg/dL nu interferează cu rezultatele.

Performanță

1. Linearitate: 10,0 mg/dL
2. Limita de detecție (sensibilitate): 0,1 mg/dL

3. Comparație: S-a realizat un studiu comparativ între analizoarele din seria Yumizen 200 și un analizor similar cu această metodă, având ca rezultat un coeficient de corelare de 0,999 și o ecuație de regresie $y=0,985x - 0,12$.
4. Precizie: S-au realizat studii de precizie pe analizoarele din seria Yumizen 200, în urma unei modificări a liniilor directoare incluse în documentul NCCLS EP5-T2.¹⁰

În cursul zilei

Media S.D. C.V.%
0,48 0,05 10,1
1,92 0,09 4,5

De la o zi la alta

Media S.D. C.V.%
0,39 0,05 12,8
1,91 0,11 5,8

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. 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. Documentul NCCLS „National Evaluation Protocols for Interference Testing”, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (iunie 1984).
9. Young, D.S., Effects of Preatalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
10. Documentul NCCLS „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”, Ed. a 2-a. (1992)
11. Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

Legendă simboluri



A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ)



Cod lot și serie



Număr catalog



Producător



Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro* Limită de temperatură



Consultați instrucțiunile de utilizare

Rx Only: Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală



Marcaj CE



REPRESENTANT



Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană



12-HB936-156



Produs de
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



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

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.