

REF 10207-4 4 x 29 ml / 8 ml

BILIRUBINA CAŁKOWITA (TBIL)

Każdy z pojemników zawiera 29 ml odczynnika R1 i 8 ml odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

Odczynnik TBIL EasyRA służy do ilościowego pomiaru bilirubiny całkowitej w surowicy ludzkiej lub osoczu dorosłych z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer. Pomiary bilirubiny są wykorzystywane w diagnostyce i leczeniu wątroby, zaburzeń hemolitycznych i metabolizmu, a także zapalenia wątroby oraz zablokowania dróg żółciowych.

Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

OPIS I OBJAŚNIENIE

Bilirubina jest pigmentem tworzonym z hemoglobiny, obecnym w surowicy jako produkt rozpadu czerwonych ciałek krwi. Podwyższone stężenie bilirubiny może być wynikiem procesów hemolitycznych, choroby wątroby lub zaburzeń przewodu żółciowego. Bilirubina występuje w dwóch postaciach: niezwiązanej (pośredniej) i związanej (bezpośredniej). Bilirubina niezwiązana jest transportowana do wątroby, gdzie jest wiązana przez albuminę i staje się związana (bezpośrednia) z kwasem glukuronowym, który w końcu zostaje wydalony. Bilirubina niezwiązana jest nierozpuszczalna w roztworach wodnych i do rozpuszczenia wymaga alkoholi i innych rozpuszczalników. Analizy wykorzystujące te typy rozpuszczalników umożliwiają pomiar bilirubiny całkowitej. Mono- i dwuglukuronidowe wiązania bilirubiny są rozpuszczalne w wodzie, a analizy tego typu umożliwiają pomiar bilirubiny bezpośredniej. Metoda tradycyjna obejmuje reakcję bilirubiny z odczynnikiem diazo (np. sól 2,4-dichlorofenyldwuażoniową) w celu stworzenia kolorowego związku azo-bilirubiny. W celu przyspieszenia reakcji i procesu tworzenia związku azo-bilirubiny zastosowano również substancje dodatkowe, takie jak etanol¹, kofeina² i DMSO³. Dodatkowo zastosowano również substancje powierzchniowo czynne i środki solubilizujące⁴.

ZASADY PROCEDURY

Metoda punktu końcowego reakcji umożliwia pomiar całkowitej (związanej i niezwiązanej) bilirubiny w oparciu o jej połączenie z solą 2,4-dichlorofenyldwuażoniową w obecności surfaktantu w celu wytworzenia azo-bilirubiny.



Wzrost absorpcji mierzony przy 550 nm jest wprost proporcjonalny do stężenia bilirubiny całkowitej w próbce.

ODCZYNNIKI

Odczynnik TBIL (R1):

NaCl	154 mmol/l
HCL	190 mmol/l
Surfaktanty i środki konserwujące.	

Odczynnik TBIL (R2):

HCL	417 mmol/l
Sól 2,4-dichlorofenyldiazonium	5 mmol/l

Surfaktant

Środki ostrożności

- Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
- Odczynniki (R1 i R2) są roztworami kwasowymi. NIE wdychać i nie połykać. Unikać wszelkiego kontaktu z oczami i skórą. W przypadku kontaktu z oczami natychmiast przemyć dużą ilością wody i zasięgnąć porady lekarza. W przypadku jakiegokolwiek kontaktu ze skórą natychmiast przez 10 minut przemywać wodą. W przypadku połknięcia natychmiast skonsultować się z lekarzem. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu. Dane bezpieczeństwa.
- Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
- Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 2–8°C. Odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora EasyRA przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Należy używać czystej, niehemolizowanej surowicy lub osocza. Chronić próbki przed bezpośrednim promieniowaniem słonecznym i sztucznym oświetleniem, gdyż bilirubina bezpośrednia (niezwiązana) jest niestabilna.⁵ Analizę należy przeprowadzić w ciągu 2 godzin od pobrania próbki, ponieważ bilirubina w próbce jest niestabilna. Jeśli próbki nie mogą zostać przeanalizowane w tym czasie, można je przechowywać przez okres do 3 dni w temp. 2–8°C.⁶ Probki można przechowywać przez 3 miesiące w temp. -70°C. Do pobierania osocza można używać probówek powlekanych heparyną litową.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika TBIL Medica (Medica TBIL Reagent Wedge), NR REF. 10207

Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyCal (Medica EasyCal Chemistry), NR REF. 10651

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korki i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze chłodniczym odczynników. Otwarty odczynnik pozostaje stabilny, jeśli jest przechowywany wewnątrz chłodzonej komory odczynników w analizatorze EasyRA przez liczbę dni zaprogramowanych w układzie RFID na pojemniku odczynnika (maksymalnie przez 28 dni) lub po wyjęciu w chłodziarce w temp. 2–8°C (ponownie zamknięty).

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze sprawdzić, czy po zdjęciu korków wewnątrz szyjek pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania. Używać oddzielnych czystych wacików lub pipetek do czyszczenia części odczynników R1 i R2.

Kalibracja

Kalibrację badania zaleca się przeprowadzać z użyciem kalibratora Medica EasyCal Chemistry, NR REF. 10651. Odstęp między kalibracjami (maksymalnie 7 dni) programowany jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika. Rekalibracja jest wymagana po każdorazowej zmianie partii odczynnika lub wystąpieniu zmian w wartościach kontroli jakości.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) codziennie, jeśli wykonywane są badania pacjentów, oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu badania analizator chemiczny Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) oblicza stężenie bilirubiny całkowitej na podstawie stosunku wyregulowanej absorbancji próbki badanej do wyregulowanej absorbancji kalibratora pomnożonej przez wartość kalibracyjną.

$$\text{TBIL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U550} - A_{U600}) - (A_{RBik550} - A_{RBik600})] - [(A_{U550} - A_{U600}) S_{Bik} - (A_{RBik550} - A_{RBik600}) S_{Bik}]}{[(A_{C550} - A_{C600}) - (A_{RBik550} - A_{RBik600})] - [(A_{C550} - A_{C600}) S_{Bik} - (A_{RBik550} - A_{RBik600}) S_{Bik}]} \times \text{Cal Value} \times dF$$

Gdzie A_U i A_C to kolejno wartości absorbancji próbki badanej i kalibratora; A_{RBik} to absorbancja odczynnika ślepego; S_{Bik} to próba ślepa; natomiast „Cal Value” to stężenie bilirubiny całkowitej w kalibratorze (mg/dl). Ponieważ objętość reakcji ulega zmianie po opóźnionym dodaniu odczynnika R2, obliczenia uwzględniają również współczynnik korekcyjny rozcieńczenia (dF).

Próba ślepa jest regulowana na podstawie współczynnika rozcieńczenia na skutek różnicy pomiędzy R1 a (R1 i R2):

$$df = \frac{\text{Obj. odczyn}_1 + \text{Obj. rozcień.} + \text{Obj. próbki}}{\text{Obj. całkowita}}$$

Przewidywane wartości¹⁰

Zakres referencyjny dla TBIL w surowicy jest następujący:

Dorośli: 0,2–1,0 mg/dl

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości standardowych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Należy używać wyłącznie próbek surowicy niehemolizowanej lub osocza. Nie sprawdzano skuteczności tego badania w przypadku noworodków.

Analizator EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 20 mg/dl, jako wysoką liniowość „LH”. W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania TBIL do 40 mg/dl.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁹

Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 0,08 do 20 mg/dl. Rozszerzony zakres wynosi od 0,08 do 40 mg/dl przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika TBIL Medica (Medica Reagent for TBIL) (y) w analizatorze EasyRA (y) z porównywalnym odczynnikiem TBIL (x) w analizatorze Roche COBAS MIRA. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na analizatorze EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze Roche COBAS MIRA.

Ilość próbek	65	Zakres próbek	0,05 - 19,8 mg/dl
Nachylenie	1,0043	Wychwytywanie y	-0,1966
Współczynnik korelacji	0,9957	Równanie regresji:	$Y = 1,0043 \cdot X - 0,1966$

*Cobas Mira to zarejestrowana nazwa handlowa Roche Diagnostics, INC, Indianapolis, IN.

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania pasujących próbek surowicy (x) i osocza z heparyną litową (y) przy użyciu odczynnika TBIL w analizatorze EasyRA. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń osocza w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami dla surowicy.

Ilość próbek	62	Zakres próbek	0,17 do 16,78 mg/dl
Nachylenie	0,9952	Wychwytywanie y	-0,0079
Współczynnik korelacji	0,9998	Równanie regresji	$Y = 0,9952 \cdot X - 0,0079$

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poz. kontr. jakości mg/dl	SD wewn. przebiegu mg/dl	CV wewn. przebiegu %
3,36	0,02	0,67
1,66	0,02	1,13
0,44	0,01	2,64

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości mg/dl	SD niedokł. całkowita mg/dl	CV niedokł. całkowita %
3,36	0,05	1,35
1,66	0,03	2,09
0,44	0,02	3,81

Liniowość (CLSI, EP6-A)⁹

Liniowe od 0,08 do 20 mg/dl, na podstawie regresji liniowej $Y = 0,98 \cdot X + 0,0921$.

Granica próby ślepej (LOB):	0,04 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Granica wykrywania (LOD):	0,06 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Granica oznaczania ilościowego (LoQ):	0,05 mg/dl	(CLSI, EP17-A)

Interferencja (CLSI, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Zanotowano znaczącą interferencję dla hemoglobiny na poziomie powyżej 125 mg/dl.

Możliwa jest znaczna interferencja z trójglicerydami. Nie używać próbek lipemicznych.

Obserwowana jest znaczna dodatnia interferencja ze strony zieleni indocyjaninowej.

Próbki o podwyższonym stężeniu immunoglobuliny M (IgM) lub próbki pobrane od pacjentów z makroglobulinemią Waldenstroma mogą dawać niewiarygodne wyniki.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.⁷

LITERATURA

1. Malloy H.T. and Evelyn, K.A., *The Determination of Bilirubin with the Photoelectro Colorimeter.*, J.Biol. Chem 119:481-490 (1973).
2. Jendrassik, L and Grof, P. *Vereinfachte, Photometrische Methoden zur Bestimmung des Bilirubins*, Biochem. A. 297: 81-89 (1938).
3. Walters, M. and Gerarde, H. *An Ultramicro method for the Determination of Conjugated and Total Bilirubin in Serum or Plasma*. Microchem. J. 15:231-243 (1970).
4. Winsten, J. and Cehelyk, B., *A Rapid Micro Diazo Technique for Measuring Total Bilirubin.*, Clin. Chem. Acta 25: 441-446 (1969).
5. Henry, R.J. *Clinical Chemistry, Principles and Technics*, Hagerstown, MD: Harper and Row, Publishers 1974:1058.
6. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, 1986: str. 1388.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
9. Dane własne Medica.
10. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
11. NCCLS EP9-P
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices* (NCCLS) Document EP5-T2 (ISBN 1-56238-145-8), 1992.

Parametry oznaczania EasyRA (TBIL)

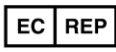
Podstawowa długość fali (nm)	550
Drugorzędna długość fali (nm)	600
Typ reakcji	Punkt końcowy (2)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Tak (przy każdej kalibracji)
Próba ślepa	Tak
Czas reakcji	5,6 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	7 dni
Stabilność odczytnika w systemie	28 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	8,0
Obj. rozcieńczalnika 1 (μl)	15
Obj. rozcieńczalnika 2 (μl)	15
Obj. odczytnika R1 (μl)	150
Obj. odczytnika R2 (μl)	38
Miejsca po przecinku (wartości domyślne)	2
Jednostki (wartości domyślne)	mg/dl
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (zwiększającego zakres pomiaru)
Liniowość	0,08–20 mg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands