

REF 10212-4 4 x 29 mL / 8 mL

BILIRUBINA BEZPOŚREDNIA (DBIL)

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

ZASTOSOWANIE

Odczynnik DBIL EasyRA służy do ilościowego pomiaru bilirubiny bezpośredniej w surowicy ludzkiej i 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. Bilirubin występuje w dwóch postaciach: niezwiązanej (pośredniej) i związanej (bezpośredniej). Bilirubina niezwiązana jest transportowana do wątroby, gdzie jest wiązana przez albuminę i staje się związana (pośrednia) 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 standardowa, opisana przez Ehrlicha,¹ obejmuje reakcję bilirubiny z odczynnikiem diazo (np. zdiazowany kwas sulfanilowy) w celu stworzenia kolorowego związku azo-bilirubiny. Badanie to umożliwia pomiar bezpośredniej (związanej) bilirubiny w oparciu od jej połączenie z solą dwuazoniową w obecności kwasu amidosulfonowego w celu wytworzenia azo-bilirubiny.

ZASADY PROCEDURY

Niniejsza reakcja punktu końcowego opiera się od zastosowanie soli 2,4-dichlorophenyldiazonium jako odczynnika diazo:

Bilirubina bezpośrednia + 2,4-dichlorophenyldiazonium → Sól azobilirubiny

Bilirubina bezpośrednia (związana) łączy się z odczynnikiem diazo, tworząc azobilirubinę. Wzrost absorbancji mierzony przy 550 nm jest proporcjonalny do stężenia bilirubiny bezpośredniej.

ODCZYNNIKI

Odczynnik DBIL (R1):

EDTA-Na ₂	0,1 mmol/L
NaCl	154 mmol/L
Kwas amidosulfonowy	100 mmol/L

Odczynnik DBIL (R2):

Sól 2,4-dichlorophenyldiazonium	5 mmol/L
HCL	0,9 mol/L
EDTA-Na ₂	0,13 mmol/L

Środki ostrożności

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. 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.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECCHOWYWANIA 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 chemicznego 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 (związana) jest niestabilna². 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°C³. Probki można przechowywać przez 3 miesiące w temp. -70°C. Do pobierania osocza można używać probówek powlekanych heparyną litową.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika DBIL Medica (Medica DBIL Reagent Wedge), NR REF. 10212

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 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 (maks. 30 dni) lub w innym miejscu w temp. 2–8°C (ponownie zamknięty).

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze EasyRA 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 30 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 EasyRA oblicza stężenie bilirubiny bezpośredniej na podstawie stosunku wyregulowanej absorbancji próbki badanej (odejmując absorbancję odczynnika ślepego i ślepej próbki) do wyregulowanej absorbancji kalibratora (po odjęciu absorbancji odczynnika ślepego i ślepej próbki) pomnożonej przez wartość kalibracyjną.

$$\text{DBIL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U550} - A_{U700}) - (A_{RBIK550} - A_{RBIK700})] - [(A_{U550} - A_{U700})_{SBIK} - (A_{RBIK550} - A_{RBIK700})_{SBIK}] \times dF}{[(A_{C550} - A_{C700}) - (A_{RBIK550} - A_{RBIK700})] - [(A_{C550} - A_{C700})_{SBIK} - (A_{RBIK550} - A_{RBIK700})_{SBIK}] \times dF} \times \text{CalValue}$$

Gdzie A_U to wartość absorbancji próbki badanej, A_{RBIK} to absorbancja odczynnika ślepego powiązanego z próbką badaną, $SBIK$ to absorbancja próby ślepej powiązanej z próbką badaną. Wszystkie wartości absorbancji oznaczone literą „C” są powiązane z kalibratorem. Ponieważ objętość reakcji ulega zmianie po opóźnionym dodaniu odczynnika R2, obliczenia uwzględniają również współczynnik korekcyjny rozcieńczenia (dF).

Przewidywane wartości³

Zakres referencyjny dla DBIL w surowicy jest następujący:

Dorośli: 0,0 - 0,20 mg/dL (0,0 - 3,4 µmol/L)

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, 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 wyszczególnia każdy wynik powyżej 10 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 DBIL do 20 mg/dL.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁴**Zakres raportowany**

Zakres raportowany wynosi od 0,06 do 10 mg/dL. Rozszerzony zakres wynosi od 0,06 do 20 mg/dL przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika bilirubiny bezpośredniej Medica (Medica Reagent for DBIL) (y) w analizatorze EasyRA wykorzystującym główną długość fali wielkości 550 nm i drugorzędną długość fali wielkości 700 nm z tym samym odczynnikiem DBIL (x) w analizatorze EasyRA wykorzystującym tylko główną długość fali wielkości 550 nm. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na analizatorze Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze EasyRA.

Ilość próbek	53	Zakres próbek	0,06 - 9,50 mg/dL
Nachylenie	1,0376	Wychwytywanie y	-0,0456
Współczynnik korelacji	0,9986	Równanie regresji	$Y = 1,0376 \cdot X - 0,0456$

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

Ilość próbek	52	Zakres próbek	0,07 do 9,95 mg/dL
Nachylenie	1,0064	Wychwytywanie y	0,01
Współczynnik korelacji	0,9992	Równanie regresji	$Y = 1,0064 \cdot X - 0,01$

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 %
2,47	0,04	1,59
1,31	0,02	1,83
0,20	0,01	5,49

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości mg/dL	SD niedokł. całkowita mg/dL	CV niedokł. całkowita %
2,47	0,05	2,09
1,31	0,02	1,87
0,2	0,01	6,93

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 0,06 do 10 mg/dl, na podstawie regresji liniowej $Y = 0,98 \cdot X + 0,0365$.

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 znaczną ujemną interferencję hemoglobiny. Należy używać **wyłącznie** próbek surowicy niehemolizowanej lub osocza. W przypadku 2,55 mg/dL DBIL nie odnotowano znaczącej interferencji na poziomie do 460 mg/dL trójglicerydów (przy użyciu Intralipidu*). Medica nie zaleca używania mętnych próbek. Obserwowana jest znacząca dodatnia interferencja ze strony zieleni indocyjaninowej. Próbkę o podwyższonym stężeniu immunoglobuliny M (IgM) lub próbki pobrane od pacjentów z makroglobulinemią Waldenstroma mogą dawać niewiarygodne wyniki.

*Intralipid to zarejestrowany znak towarowy Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych^{5, 6}.

LITERATURA

1. Ehrlich, P., *Sulfadiazobenzol, ein Reagens auf Bilirubin*. Centr. Klin. Med. 4; 721-723 (1883).
2. Gordon, E.R., *The Conjugate of Bilirubin*. *Hepatology* (NY) 2: 19 (1975).
3. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
4. Dane własne Medica.
5. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
6. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.

Parametry oznaczania EasyRA (DBIL)

Główna długość fali (nm)	550
Drugorzędna długość fali	700
Typ reakcji	Punkt końcowy (2)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Tak (przy każdej kalibracji)
Próba ślepa	Tak
Czas reakcji	4,5 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	28 dni
Stabilność odczynnika w systemie	30 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	10,0
Obj. rozcieńczalnika 1 (μl)	10
Obj. rozcieńczalnika 2 (μl)	10
Obj. odczynnika R1 (μl)	160
Obj. odczynnika R2 (μl)	40
Miejsca po przecinku (wartości domyślne)	2
Jednostki (wartości domyślne)	mg/dL
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (zwiększającego zakres pomiaru)
Linowość	0,06 - 10 mg/dL

