



LINEA LIQUIDA

Bilirrubina Directa

AA

Método DPD para la determinación de bilirrubina directa en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La bilirrubina es un producto de la degradación del grupo hemo por el sistema mononuclear fagocítico y existe en dos formas, conjugada y no conjugada. La bilirrubina no conjugada (indirecta) es transportada por la albúmina al hígado, donde se conjuga con ácido glucurónico en los hepatocitos convirtiéndose en bilirrubina conjugada (directa), permitiendo de este modo su excreción a través de la bilis.

Los niveles de bilirrubina directa se miden para investigar la causa de una ictericia pre-hepática, hepática o post-hepática. Niveles aumentados de bilirrubina directa se observan en enfermedades hepatocelulares tales como hepatitis y en casos de colestasis post-hepática.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La bilirrubina directa reacciona con la sal de diclorofenildiazonio (DPD) formando un azocompuesto de color rojo en solución ácida.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución acuosa conteniendo ácido clorhídrico 17 mmol/l.

B. Reactivo B: solución acuosa conteniendo sal de diclorofenildiazonio 0,4 mmol/l en ácido clorhídrico 17 mmol/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar.

Reactivo B: listo para usar. Este reactivo puede presentar una ligera tonalidad parduzca que no afecta su reactividad.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener de la manera habitual. Proteger de

la luz natural o artificial envolviendo el tubo con papel negro.

b) Aditivos: en caso de que la muestra sea plasma, debe usarse heparina para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Muestras con hemólisis producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por lipemia hasta 5 g/l (500 mg/dl) de triglicéridos. Sin embargo, muestras hiperlipémicas producen resultados erróneos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. En caso de no efectuarse el ensayo en el momento, la muestra puede conservarse hasta 48 horas en refrigerador (2-10°C).

La acción de la luz es capaz de destruir hasta un 50% de la bilirrubina presente en la muestra, por lo que debe protegerse cuidadosamente.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados

- Cronómetro

- Analizador automático

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 546 nm (520 - 550 nm)

- Temperatura de reacción: 25°C (30°C o 37°C)

- Tiempo de reacción: 6 minutos

- Volumen de muestra: 80 ul

- Volumen final de reacción: 1,28 ml

PROCEDIMIENTO

En 3 tubos marcados BR (Blanco de Reactivos), BM (Blanco de Muestra/Calibrador/Control) y M (Muestra/Calibrador/Control), colocar:

	BR	BM	M
Reactivo A	1 ml	1,2 ml	1 ml
Agua destilada	80 ul	-	-
Muestra	-	80 ul	80 ul
Mezclar e incubar exactamente 60 segundos. Luego agregar:			
Reactivo B	0,2 ml	-	0,2 ml

Mezclar e incubar 5 minutos. Inmediatamente después, leer en espectrofotómetro a 546 nm (520 - 550 nm), llevando a cero el aparato con el Blanco de Reactivo (BR). Lectura 1 (DO₁): BM (Blanco de Muestra) o BC (Blanco de Calibrador). Lectura 2 (DO₂): M (Muestra) o C (Calibrador).

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Bilirrubina Directa (mg/l) = (DO_{2M} - DO_{1BM}) x f

donde:

$$f = \frac{X' \text{ mg/l}}{\text{DO}_{2C} - \text{DO}_{1BC}}$$

(^{*)} concentración de bilirrubina directa en el **Calibrador A plus** de Wiener lab.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de bilirrubina directa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Bilirrubina directa en suero o plasma:

Adultos: hasta 2 mg/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Bilirrubina (umol/l) = Bilirrubina (mg/l) x 1,71

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

La acción de la luz, tanto sobre los sueros como sobre las soluciones standard, es capaz de destruir en una hora hasta el 50% de la bilirrubina presente.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron dos niveles de concentración, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,075 mg/l	1,09%
24,3 mg/l	± 0,255 mg/l	1,05%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,15 mg/l	2,23%
24,3 mg/l	± 0,249 mg/l	1,03%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 100 mg/l (10 mg/dl) de bilirrubina directa. Para valores superiores, repetir la determinación empleando muestra diluida 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica, multiplicando el resultado obtenido por 2 ó 4 según el caso.

c) Límite de detección: depende del fotómetro empleado

y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será de 0,012 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración, debe usarse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

168 ml: 4 x 35 ml Reactivo A
4 x 7 ml Reactivo B
(Cód. 1008116)*

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1120007)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009335)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009246)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009604)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009912)

BIBLIOGRAFIA

- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin.Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AAC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.



LINHA LÍQUIDA

Bilirrubina Directa

AA

Método DPD para a determinação de bilirrubina direta em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

A bilirrubina é um produto da degradação do grupo heme pelo sistema mononuclear fagocitário e existe em duas formas: conjugada e não conjugada.

A bilirrubina não conjugada (indireta) é transportada pela albumina ao fígado, onde conjugam-se com ácido glucurônico nos hepatócitos convertendo-se em bilirrubina conjugada (direta) que é excretada, desta forma, através da biliar.

Os níveis de bilirrubina direta são medidos para investigar a causa de uma icterícia pré-hepática, hepática ou pós-hepática. Observam-se níveis aumentados de bilirrubina direta em doenças hepatocelulares tais como hepatite e em casos de colestase pós-hepática.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A bilirrubina direta reage com o sal de diclorofenildiazônio (DPD) produzindo um azo composto cor vermelho em solução ácida.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução aquosa contendo ácido clorídrico 17 mmol/l.

B. Reagente B: solução aquosa contendo sal de diclorofenildiazônio 0,4 mmol/l em ácido clorídrico 17 mmol/l.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Calibrador A plus da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente A: pronto para uso.

Reagente B: pronto para uso. Este reagente pode desenvolver uma leve tonalidade verde-amarronzada que não afeta a sua reatividade.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: obter da maneira habitual. Manter protegido da luz natural ou artificial, cobrindo o tubo com papel escuro.

b) Aditivos: caso de que a amostra seja plasma, deve-se utilizar heparina para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- Amostras com hemólise produzem valores de bilirrubina falsamente diminuídos.

- Não se observam interferências por lipemia até 5 g/l (500 mg/dl) de triglicérides. No entanto, amostras hiperlipêmicas produzem supervalorização dos resultados.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. Caso de não realizar-se o ensaio na hora, a amostra deve ser conservada até 48 horas sob refrigeração (2-10°C).

A ação da luz pode destruir em uma hora até 50% da bilirrubina presente na amostra. Por tal motivo deve-se proteger cuidadosamente da luz.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro
- Micropipetas ou pipetas para medir os volumes indicados
- Cronômetro
- Analisador automático

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 546 nm (520 - 550 nm)
- Temperatura de reação: 25°C (30°C ou 37°C)
- Tempo de reação: 6 minutos
- Volume de amostra: 80 ul
- Volume final de reação: 1,28 ml

PROCEDIMENTO

Em 3 tubos marcados BR (Branco de Reagentes), BM (Branco de Amostra/Calibrador/Controle), e M (Amostra/Calibrador/Controle), colocar:

	BR	BM	M
Reagente A	1 ml	1,2 ml	1 ml
Água destilada	80 ul	-	-
Amostra	-	80 ul	80 ul
Misturar e incubar exatamente 60 segundos. Após, acrescentar:			
Reagente B	0,2 ml	-	0,2 ml

Misturar e incubar 5 minutos. Logo após, ler em espectrofotômetro a 546 nm (520 - 550 nm), levando o aparelho a zero com o Branco de Reagente (BR). Leitura 1 (DO₁): BM (Branco de Amostra) ou BC (Branco de Calibrador). Leitura 2 (DO₂): M (Amostra) ou C (Calibrador).

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Bilirrubina Direta (mg/l) = (DO_{2 Amostra} - DO_{1 Amostra}) x f

onde:

$$f = \frac{X' \text{ mg/l}}{\text{DO}_{2 \text{ Calibr.}} - \text{DO}_{1 \text{ Calibr.}}}$$

(*) concentração de bilirrubina direta no **Calibrador A plus** da Wiener lab.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de bilirrubina direta, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Bilirrubina direta em soro ou plasma:

Adultos: até 2 mg/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Bilirrubina (umol/l) = Bilirrubina (mg/l) x 1,71

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. A ação da luz sobre as amostras e soluções padrão, pode destruir em 1 hora até o 50% da bilirrubina presente.

DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** aplicando o protocolo EP-15A do CLSI, se analisaram dois níveis de atividade, cada um por quadruplicado durante 5 dias. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,075 mg/l	1,09%
24,3 mg/l	± 0,255 mg/l	1,05%

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,15 mg/l	2,23%
24,3 mg/l	± 0,249 mg/l	1,03%

b) **Linearidade:** a reação é linear até 120 mg/l (12 mg/dl) de bilirrubina direta. Para valores superiores repetir a determinação com amostra diluída 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e multiplicar o resultado obtido por 2 ou 4 respectivamente.

c) **Limite de detecção:** depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros com

cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um ΔA de 0,001 a mudança mínima de concentração detectável será de 0,012 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar o **Calibrador A plus** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

168 ml: 4 x 35 ml Reagente A

4 x 7 ml Reagente B

(Cód. 1008116)*

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A

2 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1120007)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A

2 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1009335)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A

2 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1009246)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A

2 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1009604)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A

2 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1009912)

REFERÊNCIAS

- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin.Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.



Bilirrubina Directa

AA

DPD method for direct bilirubin determination in serum or plasma

SUMMARY

Bilirubin is a product resulting from the degradation of the hemo group by the phagocytic mononuclear system. It has two forms, conjugated and non-conjugated. Conjugation with glucuronic acid takes place inside the hepatocytes. The conjugated bilirubin is subsequently excreted in the bile. Direct bilirubin is measured in the investigation of a pre-hepatic, hepatic or post-hepatic jaundice. Increased levels of direct bilirubin are observed in hepatocellular diseases such as hepatitis and post-hepatic cholestasis cases.

PRINCIPLE

Direct bilirubin reacts with dichlorophenyldiazonium salt (DPD) yielding a red azocompound in acid medium.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: aqueous solution containing 17 mmol/l hydrochloric acid.

B. Reagent B: aqueous solution containing 0.4 mmol/l dichlorophenyldiazonium salt in 17 mmol/l hydrochloric acid.

NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab's **Calibrador A plus**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: ready to use.

Reagent B: ready to use. The Reagent B may develop a slight brownish color shade which does not affect its performance.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain as usual. Protect from natural or artificial light covering the tube with black paper.

b) Additives: heparine.

c) Known interfering substances:

- Samples with hemolysis produce falsely decreased values.

- No interferences have been observed with triglycerides up to 5 g/l (500 mg/dl). However, hyperlipemic samples produce overvaluation of the results.

See Young, D.S. under References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. If assay is not performed immediately, serum can be stored up to 48 hours at 2-10°C.

The action of light is capable of destroying up to a 50% of the bilirubin present in the sample. Consequently, it should be carefully protected from light.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer
- Micropipettes and pipettes to measuring the stated volumes
- Stopwatch
- Autoanalyzer

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 546 nm (520 - 550 nm)
- Reaction temperature: 25°C (30°C or 37°C)
- Reaction time: 6 minutes
- Sample volume: 80 ul
- Final reaction volume: 1.28 ml

PROCEDURE

In 3 tubes labeled RB (Reagent Blank), SB (Sample/Calibrator/Control Blank) and S (Sample/Calibrator/Control), place:

	RB	SB	S
Reagent A	1 ml	1.2 ml	1 ml
Distilled water	80 ul	-	-
Sample	-	80 ul	80 ul
Mix and exactly incubate for 60 seconds. Then, add:			
Reagent B	0.2 ml	-	0.2 ml

Mix and incubate for 5 minutes. Measure optical density at 546 nm (520 - 550 nm), setting the instrument to zero with the Reagent Blank (RB). Reading 1 (OD₁): SB (Sample Blank) or CB (Calibrator Blank). Reading 2 (OD₂): S (Sample) or C (Calibrator).

CALCULATIONS

Direct Bilirubin (mg/l) = (OD_{2 S} - OD_{1 SB}) x f

where:

$$f = \frac{X \text{ mg/l}}{OD_{2c} - OD_{1cb}}$$

(^o) direct bilirubin concentration in Wiener lab.'s **Calibrador A plus**

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is running, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known direct bilirubin concentration.

REFERENCE VALUES

Direct bilirubin in serum or plasma:

Adults: up to 2 mg/l

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Bilirubin (umol/l) = Bilirubin (mg/l) x 1.71

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

The action of light, both on sample and on the standard solutions, is capable of destroying up to 50% of the bilirubin in one hour.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: CLSI's protocol EP15-A was applied. Two concentration levels were analyzed in replicates by four, during 5 days. With the obtained results total and intra-assay precision were calculated.

Intra-assay precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
6.9 mg/l	± 0.075 mg/l	1.09 %
24.3 mg/l	± 0.255 mg/l	1.05 %

Total precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
6.9 mg/l	± 0.15 mg/l	2.23 %
24.3 mg/l	± 0.249 mg/l	1.03 %

b) Linearity: the reaction is linear up to 120 mg/l (12 mg/dl) direct bilirubin. For higher values, repeat determination using 1:2 or 1:4 diluted sample with saline solution and multiply the obtained result by 2 or 4 accordingly.

c) Detection limit: it depends on the photometer used and the wavelength. In spectrophotometer with 1 cm optical length square cuvettes, for a ΔA minimum of 0.001, the minimum detectable concentration change will be of 0.012 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use. For calibration, it must be used Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. PROVIDES

168 ml: 4 x 35 ml Reagent A
4 x 7 ml Reagent B
(Cat N° 1008116)*

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. N° 1120007)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. N° 1009335)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. N° 1009246)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. N° 1009604)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. N° 1009912)

REFERENCES

- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

* CE mark pending



Nr kat. 1120007
Nr kat. 1009246
Nr kat. 1009335

Nr kat. 1009604
Nr kat. 1009912
Nr kat. 1008116

LINIA PŁYNNA

Bilirubina Directa

AA

Test do oznaczania poziomu bilirubiny bezpośredniej metodą DPD w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Bilirubina jest produktem powstającym z rozpadu grupy hemowej przez fagocytozę układu mononuklearów. Ma dwie formy: związaną i wolną. Wiązanie z kwasem glukuronowym ma miejsce w komórkach wątroby. Bilirubina związana jest następnie wydzielana z żółcią. Pomiaru bilirubiny bezpośredniej dokonujemy w żółtaczce przed-, śród- oraz pozawątrobowej. Wzrost poziomu bilirubiny bezpośredniej jest obserwowany w chorobach komórki wątrobowej takich jak zapalenie wątroby i choroby z żółtaczką pozawątrobową.

ZASADA DZIAŁANIA

Bilirubina bezpośrednia reaguje z DPD - solą 2,5-di-chlorofenylo-diazonium tzw. odczynnikiem Diazo, który przechodzi w czerwony barwnik azowy w środowisku kwaśnym.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: wodny roztwór zawierający 17 mmol/l kwas wodorochlorowy.

B. Odczynnik B: wodny roztwór zawierający 0,4 mmol/l sól 2,5-dichlorofenylo-diazonium w 17 mmol/l kwasie hydrochlorowym.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Wiener lab. **Calibrador A plus.**

INSTRUKCJA UŻYCIA

A. Odczynnik A: gotowy do zastosowania.

B. Odczynnik B: gotowy do zastosowania. Odczynnik B może przybrać odcień lekko brązowy jednak nie wpływa to na jego jakość.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia "in vitro".

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: stabilne w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

MATERIAŁ BADANY

Surowica lub osocze

a) Pobranie: pobrać metodą klasyczną, chronić przed światłem naturalnym i sztucznym zakrywając próbkę czarnym papierem.

b) Substancje dodatkowe: heparyna.

c) Znane interakcje:

- próbki z hemolizą dają fałszywie niskie wartości,
- nie obserwowano interakcji z trójglicerydami do poziomu 5 g/l (500mg/dl), jakkolwiek próbki pacjentów z hiperlipidemią zawyżają poziom. Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał powinien być świeży. Jeżeli badanie nie jest wykonane natychmiast surowicę można przechowywać do 48 godzin w lodówce w temperaturze 2-10°C.

Należy przechowywać materiał bez dostępu światła, ponieważ nawet 50% bilirubiny w próbce ulega rozpadowi.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- spektrofotometr
- mikropipety i pipety do pomiaru objętości
- stoper
- analizator automatyczny

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali 546 nm (520-550 nm)
- Temperatura reakcji: 25°C, (30°C, lub 37°C)
- Czas reakcji: 6 min.
- Objętość próbki: 80 ul
- Objętość końcowej reakcji: 1,28 ml

PROCEDURA

W trzech próbkach oznaczonych RB (Reagent Blank - ślepa), SB (Sample/Calibrator/Control Blank - wzorcowa), S (Sample/Calibrator/Control - badana) umieścić:

	RB	SB	S
Odczynnik A	1 ml	1,2 ml	1 ml
Woda destylowana	80 ul	-	-
Materiał	-	80 ul	80 ul
Wymieszać, inkubować 60 sek. następnie dodać:			
Odczynnik B	0,2 ml	-	0,2 ml

Zmieszać i inkubować 5 min. Dokonać pomiaru gęstości optycznej przy długości fali 546 nm (520-550 nm), ustawić spektrofotometr na zero przy Reagent Blank (RB). Odczyt 1 (OD₁): SB (Sample Blank) lub CB (Calibrator Blank). Odczyt 2 (OD₂): S (Sample) lub C (Calibrator).

OBLICZENIA

Bilirubina bezpośrednia (mg/l) = $(OD_{2S} - OD_{1SB}) \times f$

gdzie

$$f = \frac{X^* \text{ mg/l}}{OD_{2C} - OD_{1CB}}$$

(*) Stężenie bilirubiny bezpośredniej w Calibrador A plus Wiener lab.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania za każdym razem należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) ze znanym stężeniem bilirubiny bezpośredniej.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Bilirubina bezpośrednia w surowicy i osoczu krwi:

Dorośli do 2 mg/l

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Bilirubina (umol/l) = Bilirubina (mg/l) x 1,71

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Zarówno w materiale jak i w roztworach standaryzowanych bilirubina ulega, pod wpływem światła, rozkładowi w 50% w ciągu godziny.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: badania zostały wykonane zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie EP15-A wydanego przez CLSI. Analiza dwóch poziomów stężeń została przeprowadzona czterokrotnie w ciągu 5 dni.

Dokładność w trakcie badania (n = 20)

Poziom	S.D	C.V.
6,9 mg/l	± 0,075 mg/l	1,09 %
24,3 mg/l	± 0,255 mg/l	1,05 %

Dokładność całkowita (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
6,9 mg/l	± 0,15 mg/l	2,23 %
24,3 mg/l	± 0,249 mg/l	1,03 %

b) Linijność: reakcja jest liniowa do poziomu 120 mg/l (12 mg/dl) bilirubiny bezpośredniej. Dla wyższych stężeń należy rozcieńczyć materiał roztworem soli fizjologicznej 1:2 lub 1:4 a następnie przeprowadzić badanie, wyniki odpowiednio pomnożyć przez 2 lub 4.

c) Ograniczenia w wykrywaniu: zależą od fotometru i zastosowanej długości fali. Przy kuwecie o grubości 1 cm zgodnie z wymaganą czułością dla ΔA min. 0,001, minimalna czułość wykrywania zmiany stężenia powinna wynosić 0,012 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem progra-

nowania analizatorów automatycznych. Dla kalibracji należy zastosować Wiener lab. Calibrador A plus.

WIENER LAB. DOSTARCZA

168 ml: 4 x 35 ml Odczynnika A

4 x 7 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1008116)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnika A

2 x 20 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1120007)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnika A

2 x 20 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009335)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnika A

2 x 20 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009246)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnika A

2 x 20 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009604)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnika A

2 x 20 ml Odczynnika B


(Nr kat. 1009912)


ŹRÓDŁA


- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin.Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.


SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-197



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina