

Dri-STAT® Enzymatic Bilirubin Reagent

TABLE OF CONTENTS

English	1
Français	3
Deutsch	5
Italiano	8
Español	10
Português	12
Dansk	14
Svenska	17
Norsk	19
Ελληνικά	21
日本語	23
中文	25
Lietuviškai	27
Magyar	30
Polski	32
Türkçe	34
REFERENCES	37

Dri-STAT® Enzymatic Bilirubin Reagent

REF 683802

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent is intended for use in **in vitro** diagnostic determinations of total bilirubin in serum and plasma.

SUMMARY

The measurement of total bilirubin has been accomplished by numerous methods, most of which are based on the reaction of bilirubin with diazotized sulfanilic acid to produce a blue pigment.^{1,2} Recently, an enzyme has been described which catalyzes the oxidation of bilirubin and produces a loss in the characteristic yellow absorption band^{3,4}. Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent employs that enzyme, bilirubin oxidase. In the assay medium provided, total bilirubin can be determined by measuring the decrease in absorbance in the range 405 nm to 465 nm.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The measurement of total serum or plasma bilirubin is of value in the diagnosis of hemolytic disorders, biliary obstruction, hepatitis and cirrhosis.

PREPARATION

These instructions apply to reagent preparation for use in the manual procedure presented below. Application data sheets for specific automated instruments may indicate a different procedure which should be followed.

The buffer is provided ready for use. Reconstitution of the Enzyme Reagent should be accomplished by the careful addition of distilled water. The amount of water to be added is specified on the vial label. Mix gently to obtain complete solution. **DO NOT SHAKE TO DISSOLVE.**

STORAGE AND STABILITY

The reagent is stable until the expiration date stated on the label when stored at 2 °C to 8 °C. Reconstituted Enzyme Reagent is stable for eight hours at 20 °C to 25 °C, seven days at 2 °C to 8 °C, or thirty days at -15 °C to -20 °C. The Enzyme Reagent may be frozen only once. Do not thaw at temperatures above 30 °C or allow to thaw without gentle mixing.

SPECIMEN HANDLING

Test specimens can be serum or plasma, collected in a suitable manner. EDTA is the anticoagulant recommended for plasma specimens. Total bilirubin in clear specimens has been reported stable for several hours at room temperature and for up to seven days when refrigerated and protected from light.⁵

EXPECTED VALUES

0.1 to 1.0 mg/dL

It is recommended that each laboratory establish the normal range for the area in which it is located. The values quoted above were derived from 105 donors.

PERFORMANCE

Precision

The within-day precision (± 1 S.D.) of twenty replicates was found to be 3.8%, 0.9%, 0.8%, and 0.9% for mean values of 0.78, 2.23, 3.87, and 7.80 mg/dL, respectively. The day-to-day precision (± 1 S.D.) over a twenty-day period was found to be 4.3%, 0.9%, 1.4%, and 0.9% for mean values of 1.3, 5.7, 10.3, and 18.3 mg/dL, respectively.

Sensitivity

Using the procedure described above, the sensitivity of the assay is such that $\Delta A = 0.028$ is approximately equivalent to 1 mg/dL bilirubin.

Dynamic Range

When used in the manual procedure above, this reagent provides results which are linear to 35 mg/dL. Protocols for automated instruments may call for differences in samples and reagent volumes which may affect the dynamic range. Consult the appropriate application data sheet.

Accuracy

Results obtained with Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent in the assay of normal and abnormal sera ($n = 50$) showed a correlation (r) = 0.9997, slope = 1.045, and intercept = 0.18 mg/dL when compared with a widely used Jendrassik method.

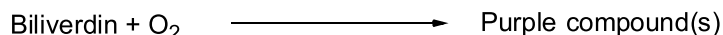
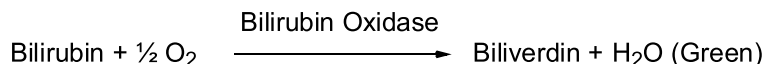
LIMITATIONS

In the presence of hemoglobin (100 mg/dL), bilirubin values are reduced by 5%.

A list of drugs and other substances which alter levels of total bilirubin or interfere with its determination has been compiled by Young et al.⁶

PROCEDURE

The reaction sequence employed in the assay of bilirubin is as follows:



The total absorption change in the range 405 nm to 465 nm is proportional to the concentration of bilirubin in the sample.

REAGENTS

Active Ingredients	Concentration in Reagent as Formulated
Enzyme Reagent Bilirubin oxidase (microbial)	25000 U/l

The buffer provided contains 100 mmol/L tris (hydroxymethyl) amino methane, pH 8.2 ± 0.2 .

In addition to Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent, performance of the test requires a bilirubin calibrator and devices capable of accurate delivery of samples, standards and reagent, as well as accurate measurement of absorbance.

These instructions are intended for use in tests employing manual instrumentation. Specific instructions for reagent use on selected automated instruments are available on request.

System Parameters

Wavelength	465 nm
Incubation temperature	37 °C
Mode	Absorbance
Absorbance Range	0 to 2 A
Cuvette pathlength	1.0 cm
Reaction time	5 minutes
Sample volume	0.05 mL
Buffer volume	1.00 mL
Enzyme reagent volume	0.08 mL

1. Add 1.0 mL buffer to a clean cuvette. Place the cuvette in the spectrophotometer and adjust absorbance reading to zero.
2. Add 0.05 mL of calibrator or sample and mix well.
3. Record initial absorbances of calibrator and samples (A0)

4. Add 0.08 mL Enzyme Reagent, mix well, and incubate at 37 °C for at least five minutes.
5. Record final absorbances of calibrator and samples (A_f).
6. Calculate $\Delta A = A_0 - A_f$ for calibrator (ΔA_c) and samples (ΔA_s).

CALCULATION

Compute total bilirubin levels as follows:

$$\text{Total Bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C is the value in mg/dL of the calibrator used.

NOTES

1. To avoid drift, final absorbances (A_f) should be read no longer than one hour after Enzyme Reagent addition.
2. If an unusually high total bilirubin level is observed, (> 35 mg/dL), dilute the serum with saline and reassay. Multiply results by dilution factor. A dilution of 3, i.e., 0.1 mL serum + 0.2 mL saline is recommended.
3. This assay may be performed at room temperature by increasing the incubation period to ten minutes.

QUALITY CONTROL PROCEDURES

It is recommended that normal and abnormal controls, or calibrators, be included in each set of assays. Commercially available control material with established data confirmed by a reference laboratory may be used for quality control. The assigned value of the control material must be confirmed by this methodology.

Factors other than reagent which might affect the performance of this test include proper instrument function, cleanliness of glassware and cuvettes, and accuracy of sample or reagent pipetting.

Réactif bilirubine Dri-STAT® (dosage enzymatique)

REF 683802

Pour utilisation diagnostique *in vitro*

APPLICATION

Le réactif Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent est prévu pour être utilisé dans le dosage de diagnostic **in vitro** de la bilirubine totale dans le sérum et le plasma.

RÉSUMÉ

La mesure de la bilirubine totale a été effectuée par de nombreuses méthodes, la plupart étant basées sur la réaction de la bilirubine avec l'acide sulfanilique diazoté produisant un pigment bleu.^{1,2} Une enzyme, ayant été récemment décrite, permet de catalyser l'oxydation de la bilirubine et de produire une perte dans la bande d'absorption jaune caractéristique^{3,4}. Le réactif Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent utilise cette enzyme, la bilirubine oxydase. Dans le milieu d'analyse fourni, la bilirubine totale peut être déterminée en mesurant la diminution de l'absorbance dans la plage de 405 nm à 465 nm.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La mesure de la bilirubine totale sérique ou plasmatique est importante pour le diagnostic de troubles hémolytiques, d'une obstruction biliaire, d'une hépatite et d'une cirrhose.

PRÉPARATION

Ces instructions sont valables lors de la préparation de réactifs pour une utilisation dans la procédure manuelle présentée ci-dessous. Les fiches techniques d'application pour les instruments automatisés spécifiques peuvent indiquer une procédure différente, qui devra dans ce cas être suivie.

Le tampon fourni est prêt à être utilisé. La reconstitution du réactif enzymatique doit être effectuée en ajoutant de l'eau distillée avec précaution. La quantité d'eau à ajouter est indiquée sur l'étiquette du flacon. Mélangez doucement pour obtenir une solution complète. NE PAS SECOUER POUR DISSOUDRE.

CONSERVATION ET STABILITE

Le réactif reste stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon si celui-ci est stocké entre 2 °C et 8 °C. Le réactif enzymatique reconstitué reste stable pendant huit heures entre 20 °C et 25 °C, sept jours entre 2 °C et 8 °C, ou trente jours entre -15 °C et -20 °C. Le réactif enzymatique ne peut être congelé qu'une seule fois. Ne décongelez pas à des températures supérieures à 30 °C ou laissez décongeler sans mélanger doucement.

MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de test peuvent être du sérum ou du plasma, recueilli d'une manière adéquate. EDTA est l'anticoagulant recommandé pour les échantillons de plasma. La bilirubine totale dans les échantillons clairs a été mesurée comme étant stable pendant plusieurs heures à température ambiante et jusqu'à sept jours une fois réfrigérés et protégés de la lumière.⁵

VALEURS ATTENDUES

0,1 à 1,0 mg/dL

Nous recommandons à chaque laboratoire d'établir la plage normale correspondant à la région dans laquelle il se trouve. Les valeurs citées ci-dessus ont été obtenues à partir de 105 donneurs.

PERFORMANCES

Précision

La précision intra-journalière (± 1 S.D.) de vingt mesures a été déterminée à 3,8 %, 0,9 %, 0,8 % et 0,9 % pour des valeurs moyennes respectives de 0,78, 2,23, 3,87 et 7,80 mg/dL. La précision inter-journalière (± 1 S.D.) sur une période de vingt jours a été déterminée à 4,3 %, 0,9 %, 1,4 % et 0,9 % pour des valeurs moyennes respectives de 1,3, 5,7, 10,3 et 18,3 mg/dL.

Sensibilité

En utilisant la procédure décrite ci-dessus, la sensibilité de l'analyse est telle que $\Delta A = 0,028$ équivaut approximativement à 1 mg/dL de bilirubine.

Gamme de mesure

Lorsqu'il est utilisé dans la procédure manuelle ci-dessus, ce réactif fournit des résultats linéaires jusqu'à 35 mg/dL. Les protocoles pour les instruments automatisés peuvent requérir des différences au niveau des volumes des échantillons et des réactifs qui peuvent affecter la plage dynamique. Consultez la fiche technique d'application adéquate.

Exactitude

Les résultats obtenus avec le réactif de bilirubine enzymatique Dri-STAT dans l'analyse de sérum normal et anormal ($n = 50$) ont démontré une corrélation ($r = 0,9997$, pente = 1,045 et interception = 0,18 mg/dL par rapport à la méthode de Jendrassik, largement répandue.

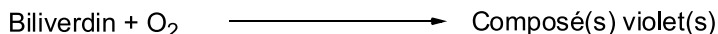
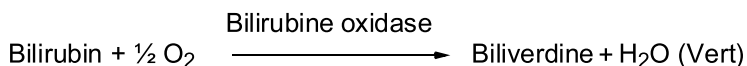
LIMITES

En présence d'hémoglobine (100 mg/dL), les valeurs de bilirubine sont réduites de 5 %.

Une liste des médicaments et autres substances qui altèrent les taux de bilirubine totale ou interfèrent avec leur détermination a été compilée par Young et al.⁶

PROCEDURE

La séquence de réactions employée dans l'analyse de la bilirubine est décrite ci-dessous :



Le changement d'absorption total dans la plage de 405 nm à 465 nm est proportionnel à la concentration de bilirubine dans l'échantillon.

REACTIFS

Principes actifs

Réactif enzymatique :
bilirubine oxydase
(d'origine microbienne)

Concentration en réactif tel que formulé

25000 U/l

Le tampon fourni contient 100 mmol/L de tri-(hydroxyméthyl)-amino méthane, pH $8,2 \pm 0,2$.

En plus du réactif Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent, les performances du test requièrent un calibrateur de bilirubine et des appareils capables de fournir des quantités précises d'échantillons, de standards et de réactif, ainsi que des mesures précises de l'absorption.

Ces instructions sont destinées au mode d'emploi en mode manuel. Les instructions spécifiques pour l'utilisation du réactif sur des instruments automatiques sélectionnés sont disponibles sur demande.

Paramètres

Longueur d'onde	465 nm
Température d'incubation	37 °C
Mode	Absorbance
Gamme d'absorbance	0 à 2 A
Trajet optique	1,0 cm
Temps de réaction	5 minutes
Volume d'échantillon	0,05 mL
Volume de tampon	1,00 mL
Volume de réactif enzymatique	0,08 mL

1. Ajoutez 1,0 mL de tampon à une cuvette propre. Placez la cuvette dans le spectrophotomètre et ajustez la mesure d'absorbance sur zéro.
2. Ajoutez 0,05 mL de calibrateur ou d'échantillon et mélangez bien.
3. Enregistrez les absorbances initiales du calibrateur et des échantillons (A_0).
4. Ajoutez 0,08 mL de réactif enzymatique, mélangez bien, puis faites incuber à 37 °C pendant au moins cinq minutes.
5. Enregistrez les absorbances finales du calibrateur et des échantillons (A_f).
6. Calculez $\Delta A = A_0 - A_f$ pour le calibrateur (ΔA_c) et les échantillons (ΔA_s).

CALCUL

Calculez les taux de bilirubine totale comme suit :

$$\text{Bilirubine totale (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C est la valeur en mg/dL du calibrateur utilisé.

NOTES

1. Pour éviter toute dérive, les absorbances finales (A_f) doivent être lues au maximum une heure après l'ajout du Réactif Enzyme.
2. Si des taux anormalement élevés de bilirubine totale sont observés (> 35 mg/dL), diluez le sérum avec du soluté physiologique et recommencez l'analyse. Multipliez les résultats par le facteur de dilution. Une dilution de 3 (c.-à-d 0,1 mL de sérum + 0,2 mL de soluté physiologique) est recommandée.
3. Cette analyse peut être effectuée à la température ambiante en augmentant la période d'incubation à dix minutes.

CONTROLE DE QUALITE

Nous vous recommandons d'inclure des contrôles (ou calibrateurs) normaux ou anormaux dans chaque ensemble d'analyses. Un matériel de contrôle disponible dans le commerce, comportant des données établies confirmées par un laboratoire de référence, peut être utilisé pour le contrôle de la qualité. La valeur attribuée du matériel de contrôle doit être confirmée par cette méthodologie.

Les facteurs (autres que le réactif) pouvant affecter les performances de ce test incluent le bon fonctionnement de l'instrument, la propreté de la verrerie et des cuvettes, ainsi que la précision du pipetage de l'échantillon ou du réactif.

Dri-STAT® Bilirubin-Reagenz (enzymatische Analyse)

REF 683802

In-vitro-Diagnostikum

ANWENDUNGSBEREICH

Das enzymatische Dri-STAT-Bilirubin-Reagenz ist für die Bestimmung vom Gesamtgehalt von Bilirubin in Serum und Plasma bei **in vitro** Diagnostik vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Messung des Gesamtgehalts von Bilirubin wurde mittels verschiedener Methoden durchgeführt. Die meisten davon basieren auf der Reaktion von Bilirubin mit diazotierter Sulfanilsäure, die ein blaues Pigment erzeugt.^{1,2} Vor kurzem wurde ein Enzym beschrieben, welches die Oxidation von Bilirubin katalysiert und eine Verminderung der charakteristischen gelben Absorptionsbänder hervorruft^{3,4}. Das enzymatische Dri-STAT-Bilirubin-Reagenz verwendet dieses Enzym, Bilirubin-Oxidase.

Im beigefügten Testmedium kann der Gesamtgehalt an Bilirubin durch die Messung der Absorptionsminderung im Bereich zwischen 405 nm und 465 nm bestimmt werden.

KLINISCHE BEDEUTUNG

Die Bestimmung von Gesamtbilirubin in Serum oder Plasma unterstützt die Diagnose von hämolytischen Erkrankungen, Gallengangsobstruktion, Hepatitis und Zirrhose.

VORBEREITUNG

Diese Anweisungen beziehen sich auf die manuelle Reagenzvorbereitung, die unten beschrieben wird. Anwendungsdatenblätter für spezifische automatisierte Geräte können andere Methoden vorschreiben, die dann eingehalten werden müssen.

Der Puffer wird betriebsbereit zur Verfügung gestellt. Bei der Rekonstitution von Enzymreagenz sollte vorsichtig destilliertes Wasser beigemengt werden. Angaben zur Wassermenge, die hinzugefügt werden sollte, finden Sie auf dem Etikett der Ampulle. Vermischen Sie es vorsichtig, um eine Lösung zu erhalten. Zum Auflösen nicht schütteln.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das Reagenz bleibt bis zum auf dem Etikett angegebenen Ablaufdatum bei 2 °C bis 8 °C stabil. Rekonstituiertes Enzymreagenz bleibt bei 20 °C bis 25 °C für acht Stunden stabil, bei 2 °C bis 8 °C für sieben Tage und bei -15 °C bis -20 °C dreißig Tage. Das Enzymreagenz darf nur einmal eingefroren werden. Nicht bei Temperaturen über 30 °C auftauen und nur mit vorsichtigem Mischen auftauen.

PROBENHANDHABUNG

Als Testproben können in geeigneter Weise gesammeltes Serum oder Plasma dienen. EDTA ist der für Plasmaproben empfohlene Antikoagulationsmittel. Es wurde berichtet, dass das Gesamtbilirubin in transparenten Probenröhrchen bei Raumtemperatur einige Stunden lang und in lichtgeschütztem und gefrorenem Zustand bis zu sieben Tage lang stabil bleibt.⁵

ERWARTETE WERTE

0,1 bis 1,0 mg/dL

Es wird empfohlen, dass jedes Labor eigene regionale Normalwertbereiche zusammenstellt. Die oben erwähnten Werte stammen von 105 Spendern.

LEISTUNG

Präzision

Die Präzision innerhalb eines Tages (± 1 S.D.) betrug 3,8 %, 0,9 %, 0,8 %, und 0,9 % für Mittelwerte von 0,78, 2,23, 3,87, und 7,80 mg/dL. Die Präzision zwischen Tagen (± 1 S.D.) über einen Zeitraum von zwanzig Tagen betrug 4,3 %, 0,9 %, 1,4 %, und 0,9 % für Mittelwerte von 1,3, 5,7, 10,3, und 18,3 mg/dL.

Empfindlichkeit

Mit der oben beschriebenen Methode sollte die Empfindlichkeit des Tests so sein, dass $\Delta A = 0,028$ ungefähr 1 mg/dL Bilirubin entspricht.

Dynamischer Bereich

Im oben beschriebenen manuellen Modus erzielt das Reagenz Werte, die linear zu 35 mg/dL sind. Protokolle für automatisierte Geräte können Unterschiede zwischen Proben- und Reagenzvolumen fordern, wodurch der dynamische Bereich beeinflusst werden könnte. Lesen Sie dazu das entsprechende Anwendungsdatenblatt.

Genauigkeit

Ergebnisse, die mit dem enzymatischen Dri-STAT-Bilirubin-Reagenz gewonnen wurden, zeigten bei dem Test von normalen und anormalen Seren ($n = 50$) eine Korrelation (r) = 0,9997, Anstieg = 1,045, und Schnittpunkt = 0,18 mg/dL im Vergleich zu einer häufig angewendeten Jendrassik-Methode.

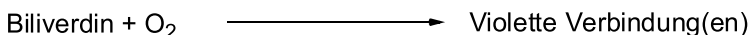
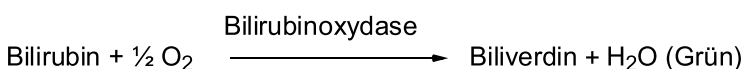
EINSCHRÄNKUNGEN

In Gegenwart von Hämoglobin (100 mg/dL) sanken die Bilirubin-Werte um 5%.

Eine Liste von Pharmaka und anderen Substanzen, die die Höhe des Gesamtbilirubins beeinflussen oder verändern können, wurde von Young et al zusammengestellt.⁶

VERFAHREN

Die Reaktionsabfolge bei der Untersuchung von Bilirubin ist wie folgt:



Die gesamte Absorptionsveränderung im Bereich von 405 nm bis 465 nm verhält sich proportional zu der Bilirubin-Konzentration in der Probe.

REAGENZIEN

Aktive Bestandteile

Enzymreagenz
Bilirubin-Oxidase
(mikrobisch)

Konzentration im Reagenz wie beschrieben.

25000 U/l

Der beigegefügte Puffer enthält 100 mmol/L tris (Hydroxymethyl) Aminomethan, pH 8,2 ± 0,2.

Zur Ausführung des Tests benötigen Sie zusätzlich zu dem enzymatischen Dri-STAT-Bilirubin-Reagenz einen Bilirubin-Kalibrator und Geräte, die Proben fehlerfrei liefern, Standards, Reagenzien und präzise Absorptionsmessungen.

Die folgenden Anweisungen beziehen sich auf Testverfahren mit handbetriebenen Apparaturen. Sonderanweisungen für die Reagenzverwendung bei Geräten mit automatischem Testablauf sind auf Anfrage erhältlich.

Systemparameter

Wellenlänge	465 nm
Inkubationstemperatur	37 °C
Modus	Absorption
Absorptionsbereich	0 bis 2 A
Küvetten-Schichtdicke	1,0 cm
Reaktionszeit	5 Minuten
Probenvolumen	0,05 mL
Puffervolumen	1,00 mL
Enzymreagenzvolumen	0,08 mL

1. Füllen Sie 1,0 mL Puffer in eine saubere Küvette. Stellen Sie die Küvette ins Spektralphotometer und stellen Sie die Absorptionswertanzeige auf null.
2. Fügen Sie 0,05 mL des Kalibrators oder der Probe hinzu und mischen Sie gut.
3. Halten Sie die ersten Absorptionsgrade des Kalibrators und der Proben fest (A_0)
4. Fügen Sie 0,08 mL Enzymreagenz hinzu, mischen Sie gut und inkubieren Sie mind. fünf Minuten lang bei 37 °C.
5. Notieren Sie den Absorptionsgrad des Kalibrators und der Proben (A_f).
6. Rechnen Sie $\Delta A = A_0 - A_f$ für den Kalibrator (ΔA_c) und für die Proben (ΔA_s).

BERECHNUNG

Sie berechnen den Gesamtgehalt an Bilirubin wie folgt:

$$\text{Gesamtgehalt Bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C ergibt den Wert in mg/dL des benutzten Kalibrators.

HINWEISE

1. Um Abweichungen zu vermeiden, sollten die letzten Absorptionswerte (A_f) nicht später als eine Stunde nach der Beimischung des Enzymreagenz gemessen werden.
2. Sollte ein unnormales hoher Gesamtgehalt an Bilirubin auftreten, (> 35 mg/dL), verdünnen Sie das Serum mit Kochsalzlösung und führen Sie den Test erneut durch. Multiplizieren Sie die Werte mit dem Verdünnungsfaktor. Eine Verdünnung von 3, d.h. 0,1 mL Serum + 0,2 mL Kochsalzlösung wird empfohlen.
3. Dieser Test sollte bei Raumtemperatur und bei einer auf zehn Minuten erhöhten Inkubationszeit durchgeführt werden.

QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

Es wird empfohlen, dass normale und unnormale Kontrollen oder Kalibratoren in jeden Testsatz einbezogen werden. Zur Qualitätskontrolle können handelsübliche Kontrollmaterialien mit von einem Referenzlabor überprüften Werten genutzt werden. Die zugewiesenen Werte des Kontrollmaterials müssen mit dieser Methode überprüft werden.

Neben dem Reagenz können u.a. die Funktionsweise von Geräten, die Sauberkeit von Glasmaterial und Küvetten und die Exaktheit von Proben- oder Reagenzpipettierung die Eigenschaften des Tests beeinflussen.

Reattivo per bilirubina Dri-STAT® (metodo enzimatico)

REF 683802

Per uso diagnostico *In Vitro*

USO PREVISTO

Il reattivo enzimatico per bilirubina Dri-STAT è previsto per l'uso nella determinazione diagnostica **in vitro** della bilirubina totale nel siero e nel plasma.

SOMMARIO

La misurazione della bilirubina totale è stata realizzata mediante svariati metodi, la maggior parte dei quali si basa sulla reazione della bilirubina con acido solfanilico diazotato formando un pigmento blu.^{1,2} Di recente, è stato descritto un enzima che catalizza l'ossidazione della bilirubina e produce una perdita nella banda di assorbimento caratteristica^{3,4} gialla. Il reattivo enzimatico per bilirubina Dri-STAT impiega tale enzima, bilirubina ossidasi. Nel mezzo fornito per il saggio, è possibile determinare la bilirubina totale, misurando la diminuzione dell'assorbanza nell'intervallo da 405 nm a 465 nm.

SIGNIFICATO CLINICO

Le misurazioni di bilirubina totale nel siero o nel plasma sono valide per le diagnosi di disordini emolitici, ostruzioni biliari, epatite e cirrosi.

PREPARAZIONE

Le presenti istruzioni si applicano alla preparazione del reattivo nella procedura manuale descritta di seguito. È possibile che le specifiche tecniche di applicazione di alcuni strumenti automatici indichino una procedura diversa.

La soluzione di tampone è pronta all'uso. La ricostruzione del reattivo enzimatico deve essere realizzata, aggiungendo con attenzione acqua distillata. Il quantitativo di acqua da aggiungere è specificato sull'etichetta della fiala. Mescolare con delicatezza per ottenere una soluzione omogenea. **NON SCUOTERE PER DISCIOGLIERE.**

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Il reattivo si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a una temperatura di 2 °C - 8 °C. Il reattivo enzimatico ricostituito si mantiene stabile per otto ore, se conservato a una temperatura di 20 °C - 25 °C, per sette giorni a una temperatura di 2 °C - 8 °C o per tre giorni a una temperatura di -15 °C - -20 °C. È possibile congelare il reattivo enzimatico una sola volta. Non scongelare a temperature superiori a 30 °C né lasciare scongelare senza mescolare con delicatezza.

TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni di test possono essere siero o plasma, adeguatamente raccolti. L'EDTA è l'anticoagulante raccomandato per i campioni di plasma. La bilirubina totale nei campioni puliti viene riportata come stabile per diverse ore a temperatura ambiente e fino a sette giorni, se refrigerati e tenuti al riparo dalla luce.⁵

VALORI ATTESI

0,1 e 1,0 mg/dL

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca l'intervallo normale in base all'area in cui si trova. I valori riportati in alto sono stati ricavati da 105 donatori.

CARATTERISTICHE PROCEDURALI

Precisione

La precisione within-day (± 1 S.D.) di venti riproduzioni è risultata essere del 3,8%, dello 0,9%, dello 0,8%, e dello 0,9% rispettivamente per i valori medi di 0,78, 2,23, 3,87 e 7,80 mg/dL. La precisione day-to-day (± 1 S.D.) in un periodo di venti giorni è risultata essere del 4,3%, dello 0,9%, dell'1,4% e dello 0,9% rispettivamente per i valori medi di 1,3, 5,7, 10,3 e 18,3 mg/dL.

Sensibilità

Mediante la procedura sopradescritta, la sensibilità del saggio è tale che $\Delta A = 0,028$ equivale circa a 1 mg/dL di bilirubina.

Linearità

Se utilizzato nella procedura manuale riportata in alto, questo reattivo produce risultati lineari a 35 mg/dL. I protocolli per gli strumenti automatici potrebbero richiedere variazioni nei campioni e nei volumi di reattivo con conseguenze sull'intervallo dinamico. Consultare le specifiche tecniche di applicazione adeguate.

Accuratezza

Il risultati ottenuti mediante il reattivo enzimatico per bilirubina Dri-STAT nel test di sieri ($n = 50$) normali e anomali hanno mostrato una correlazione ($r = 0,9997$, pendenza = 1,045 e intercetta = 0,18 mg/dL, se paragonati a un metodo Jendrassik di uso comune.

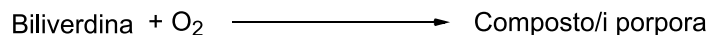
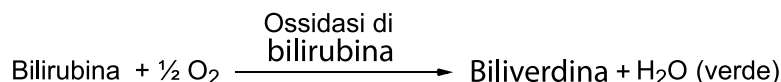
LIMITAZIONI

In presenza di emoglobina (100 mg/dL), i valori di bilirubina vengono ridotti del 5%.

È stato redatto da Young et al un elenco di farmaci e altre sostanze che alterano i livelli della bilirubina totale o interferiscono sulla sua determinazione.⁶

PROCEDURA

La sequenza di reazione impiegata nel test della bilirubina è riportata di seguito.



La variazione dell'assorbimento totale nell'intervallo da 405 nm a 465 nm è proporzionale alla concentrazione di bilirubina nel campione.

REATTIVI

Principio attivo	Concentrazione nel reattivo come formulato
Reattivo enzimatico per bilirubina ossidasi (microbico)	25000 U/l

La soluzione di tampone fornita contiene 100 mmol/L di aminomethane (idrossimetilico) di tris, pH 8.2 ± 0.2.

Oltre al reattivo enzimatico per bilirubina Dri-STAT, l'esecuzione del test richiede un calibratore per bilirubina e i dispositivi capaci di eseguire il trasferimento esatto di campioni, standard e reattivo, nonché di eseguire l'esatta misurazione dell'assorbanza.

Le seguenti istruzioni sono intese per l'uso con strumenti manuali. Sono disponibili su richiesta istruzioni specifiche sull'uso del reattivo con apparecchi automatici.

Parametri del sistema

Lunghezza d'onda	465 nm
Temperatura d'incubazione	37 °C
Modalità	Assorbanza
Intervallo di assorbanza Da	0 a 2 A
Percorso ottico cuvetta	1,0 cm
Tempo di reazione	5 minuti
Volume di campione	0,05 mL
Volume di soluzione tampone	1,00 mL
Volume reattivo enzimatico	0,08 mL

1. Aggiungere 1,0 mL di soluzione tampone in una cuvetta pulita. Posizionare la cuvetta nello spettrofotometro e regolare la lettura dell'assorbanza a zero.
2. Aggiungere 0,05 mL di calibratore o di campione e mescolare bene.
3. Registrare le assorbanze totali di calibratore e campioni (A_0)
4. Aggiungere 0,08 mL di reattivo enzimatico, mescolare bene e incubare a 37 °C per almeno 5 minuti.
5. Registrare le assorbanze finali di calibratore e campioni (A_f).
6. Calcolare $\Delta A = A_0 - A_f$ per calibratore (ΔA_c) e campioni (ΔA_s).

CALCOLI

Calcolare i livelli totali di bilirubina nel modo seguente.

$$\text{Bilirubina totale (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C è il valore in mg/dL del calibratore utilizzato.

NOTE

1. Per evitare spostamenti, le assorbanze finali (A_f) devono essere lette non più tardi di un'ora dall'aggiunta del reattivo enzimatico.

2. Se si osservano livelli di bilirubina insolitamente elevati, (> 35 mg/dL), diluire il siero con soluzione salina e rieseguire il test. Moltiplicare i risultati per il fattore di diluizione. Si raccomanda una diluizione di 3, ovvero, 0,1 mL di siero + 0,2 mL di soluzione salina.
3. Il test deve essere eseguito a temperatura ambiente, aumentando il periodo di incubazione di 10 minuti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia di includere i materiali di controllo, o i calibratori, normali e anomali in ogni serie di test. Per il controllo qualità, è possibile utilizzare il materiale di controllo con dati stabiliti, confermati da un laboratorio di riferimento, disponibile in commercio. Il valore assegnato del materiale di controllo deve essere confermato mediante questa metodologia..

Fattori diversi dal reattivo che possono influire sulle prestazioni del test includono il corretto funzionamento dello strumento, la pulizia di vetri e cuvette, nonché l'accuratezza di pipetaggio del campione o del reattivo.

Reattivo Bilirrubina Dri-STAT® (ensayo enzimático)

REF 683802

Para uso diagnóstico In Vitro

USO INDICADO

El reactivo de bilirrubina enzimático Dri-STAT está diseñado para su uso en diagnósticos **in vitro** para la determinación de la bilirrubina total en suero y plasma.

RESUMEN

La medición de la bilirrubina total se ha logrado mediante numerosos métodos, la mayoría de los cuales se basa en la reacción de la bilirrubina con ácido sulfanílico diazotizado para producir un pigmento azul.^{1,2} Recientemente, se ha descrito una enzima que cataliza la oxidación de la bilirrubina y produce una pérdida en la característica banda de absorción amarilla^{3,4}. El reactivo de bilirrubina enzimático Dri-STAT emplea dicha enzima, la oxidasa de bilirrubina. En el medio de ensayo proporcionado, la bilirrubina total puede determinarse midiendo la disminución de la absorbancia en el rango de 405 nm a 465 nm.

IMPORTANCIA CLINICA

Los valores de bilirrubina total en suero o plasma son útiles para el diagnóstico de desórdenes hemolíticos, obstrucción biliar, hepatitis y cirrosis.

PREPARACIÓN

Estas instrucciones se aplican a la preparación de reactivos para su uso en el procedimiento manual presentado a continuación. Las hojas de datos de aplicación de instrumentos automáticos específicos pueden indicar un procedimiento diferente que deberá seguirse.

El tampón se proporciona listo para su uso. La reconstitución del reactivo enzimático debe realizarse mediante la cuidadosa adición de agua destilada. La cantidad de agua que debe añadirse se especifica en la etiqueta del vial. Mézclelo con cuidado para obtener la solución completa. **NO LO AGITE PARA DISOLVERLO.**

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se almacena a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. El reactivo enzimático reconstituido es estable durante ocho horas a una temperatura de entre 20 °C y 25 °C, siete días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C o treinta días a una temperatura de entre -15 °C y -20 °C. El reactivo enzimático sólo se puede congelar una vez. No lo descongele a temperaturas superiores a 30 °C ni permita que se descongele sin mezclarlo suavemente.

MANIPULACION DE LA MUESTRA

Las muestras de prueba pueden ser suero o plasma, obtenido de un modo adecuado. EDTA es el anticoagulante recomendado para muestras de plasma. La bilirrubina total en muestras claras ha demostrado ser estable durante varias horas a temperatura ambiente y hasta siete días si se mantenía refrigerada y protegida de la luz.⁵

VALORES ESPERADOS

0,1 a 1,0 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca la gama normal para el área en la que se encuentre. Los valores indicados anteriormente se derivaron de 105 donantes.

RENDIMIENTO

Precisión

Se determinó que la precisión intradía (± 1 D.E.) de veinte replicados era del 3,8%, 0,9%, 0,8% y 0,9% para valores medios de 0,78, 2,23, 3,87 y 7,80 mg/dL, respectivamente. Se determinó que la precisión interdía (± 1 D.E.) a lo largo de un período de veinte días era del 4,3%, 0,9%, 1,4% y 0,9% para valores medios de 1,3, 5,7, 10,3 y 18,3 mg/dL, respectivamente.

Sensibilidad

Utilizando el procedimiento descrito anteriormente, la sensibilidad del ensayo es tal que $\Delta A = 0,028$ es aproximadamente equivalente a 1 mg/dL de bilirrubina.

Linealidad

Cuando se utiliza en el procedimiento manual anterior, este reactivo proporciona resultados que son lineales para 35 mg/dL. Los protocolos de instrumentos automáticos pueden implicar diferencias en las muestras y los volúmenes de reactivo que pueden afectar al rango dinámico. Consulte las hojas de datos de aplicación pertinentes.

Exactitud

Los resultados obtenidos con el reactivo de bilirrubina enzimático Dri-STAT en el ensayo de sueros normales y anómalos ($n = 50$) mostraron una correlación ($r = 0,9997$, pendiente = 1,045 e intersección = 0,18 mg/dL al compararlos con el método Jendrassik de uso extendido.

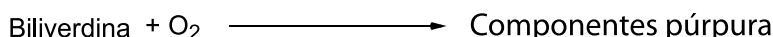
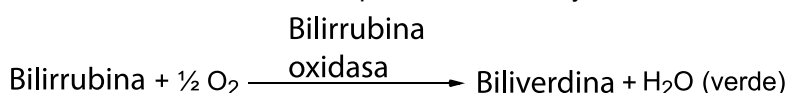
LIMITACIONES

En presencia de hemoglobina (100 mg/dL), los valores de bilirrubina se reducen en un 5%.

Puede encontrar una lista de fármacos y otras sustancias que alteran los niveles totales de bilirrubina o interfieren en su determinación compilada por Young et al.⁶

PROCEDIMIENTO

La secuencia de reacción empleada en el ensayo de bilirrubina es la siguiente:



El cambio de la absorbancia total en el rango de 405 nm a 465 nm es proporcional a la concentración de bilirrubina en la muestra.

REACTIVOS

Ingredientes activos	Concentración en el reactivo según la formulación
Reactivo enzimático Oxidasa de bilirrubina (microbiano)	25000 U/l

El tampón proporcionado contiene 100 mmol/L de tris(hidroximetil)aminometano, pH $8,2 \pm 0,2$.

Además del reactivo de bilirrubina enzimático Dri-STAT, para que la prueba sea eficaz se requiere un calibrador de bilirrubina y dispositivos capaces de proporcionar muestras, estándares y reactivos precisos, así como una medición precisa de la absorbancia.

Estas instrucciones se han diseñado para que se utilicen en ensayos que utilicen instrumentos manuales. Se encuentran disponibles instrucciones específicas para el uso del reactivo en ciertos instrumentos automatizados.

Parámetros del sistema

Longitud de onda	465 nm
Temperatura de incubación	37 °C
Modo	Absorbancia
Rango de absorbancia	De 0 a 2 A
Paso óptico de la cubeta	1,0 cm
Tiempo de reacción	5 minutos
Volumen de muestra	0,05 mL
Volumen de tampón	1,00 mL
Volumen de reactivo enzimático	0,08 mL

1. Añada 1,0 mL de tampón a una cubeta limpia. Coloque la cubeta en el espectrofotómetro y ajuste la lectura de la absorbancia a cero.
2. Añada 0,05 mL de calibrador o muestra y mézclelo bien.
3. Registre las absorbancias iniciales del calibrador y las muestras (A_0)
4. Añada 0,08 mL de reactivo enzimático, mézclelo bien e incúbelo a 37 °C durante cinco minutos como mínimo.
5. Registre las absorbancias finales del calibrador y las muestras (A_f).

6. Calcule $\Delta A = A_0 - A_f$ para el calibrador (ΔA_c) y las muestras (ΔA_s).

CÁLCULO

Calcule los niveles totales de bilirrubina de la manera siguiente:

$$\text{Bilirrubina total (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C es el valor en mg/dL del calibrador utilizado.

NOTAS

1. Para evitar variaciones, las absorbancias finales (A_f) deberían registrarse antes del transcurso de una hora desde la adición del reactivo enzimático.
2. Si se observan niveles totales de bilirrubina inusualmente elevados (> 35 mg/dL), diluya el suero en solución salina y vuelva a realizar el ensayo. Multiplique los resultados por el factor de dilución. Se recomienda una dilución de 3, esto es, 0,1 mL de suero + 0,2 mL de solución salina.
3. Este ensayo puede realizarse a temperatura ambiente aumentando el período de incubación a diez minutos.

PROCEDIMIENTO PARA EL CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir controles normales y anómalos, o calibradores, en cada conjunto de ensayos. Para el control de calidad se podrá utilizar material de control disponible a nivel comercial con datos establecidos confirmados por un laboratorio de referencia. El valor asignado del material de control debe confirmarse mediante esta metodología.

Otros factores distintos del reactivo que pueden afectar a la eficacia de esta prueba incluyen el funcionamiento correcto de los instrumentos, la limpieza de los elementos de cristal y las cubetas y la precisión de las pipetas de muestra o reactivo.

Dri-STAT® Reagente de Bilirrubina Enzimático

REF 683802

Para utilizar no diagnóstico *in vitro*

APLICAÇÃO

O Reagente de Bilirrubina Enzimático Dri-STAT destina-se à utilização em determinações de diagnóstico **in vitro** de bilirrubina total, em soro e plasma.

RESUMO

A medição de bilirrubina total foi conseguida através de vários métodos, a maioria dos quais baseiam-se na reação de bilirrubina com ácido sulfanílico diazotado para produzir um pigmento azul.^{1,2} Recentemente, foi descrita uma enzima que catalisa a oxidação de bilirrubina e produz uma perda na banda de absorção amarela característica^{3,4}. O Reagente de Bilirrubina Enzimático Dri-STAT emprega essa enzima, oxidase de bilirrubina. No meio de análise fornecido, a bilirrubina total pode ser determinada medindo a diminuição na absorção no intervalo de 405 nm a 465 nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A medição de bilirrubina de plasma ou soro total é o valor no diagnóstico de doenças hemolíticas, obstrução biliar, hepatite e cirrose.

PREPARAÇÃO

Estas instruções aplicam-se à preparação de reagente para utilização no procedimento manual apresentado abaixo. As fichas de dados de aplicação para instrumentos automatizados específicos podem indicar um procedimento diferente que deve ser seguido.

O tampão é fornecido pronto a ser utilizado. A reconstituição do Reagente Enzimático deve ser conseguida acrescentando cuidadosamente água destilada. A quantidade de água a ser adicionada é especificada na etiqueta da ampola. Misture cuidadosamente para obter a solução completa. NÃO AGITE PARA DISSOLVER.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O reagente é estável até à data de validade declarada na etiqueta se for armazenado entre 2 °C a 8 °C. O Reagente Enzimático Reconstituído é estável durante oito horas entre 20 °C a 25 °C, sete dias entre 2 °C a 8 °C ou trinta dias entre -15 °C a -20 °C. O Reagente Enzimático apenas pode congelado uma vez. Não descongele a temperaturas superiores a 30 °C nem deixe que descongele sem misturar suavemente.

MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

Os espécimes de teste podem ser soro ou plasma, recolhidos de forma adequada. EDTA é o anti-coagulante recomendado para espécimes de plasma. A bilirrubina total em espécimes claros foi declarada estável durante várias horas à temperatura ambiente e durante até sete dias se for refrigerado e protegido da luz.⁵

VALORES ESPERADOS

0,1 a 1,0 mg/dL

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça o intervalo normal para a área em que se localiza. O valores citados acima foram derivados de 105 dadores.

DESEMPENHO

Precisão

A precisão num mesmo dia (± 1 S.D.) de vinte duplicados foi determinada como sendo 3,8%, 0,9%, 0,8%, e 0,9% para valores médios de 0,78, 2,23, 3,87, e 7,80 mg/dL, respectivamente. A precisão dia-a-dia (± 1 S.D.) ao longo de um período de vinte dias foi determinada como sendo 4,3%, 0,9%, 1,4%, e 0,9% para valores médios de 1,3, 5,7, 10,3, e 18,3 mg/dL, respectivamente.

Sensibilidade

Utilizando o procedimento descrito acima, a sensibilidade da análise é tal que $= 0,028$ é aproximadamente equivalente a 1 mg/dL de bilirrubina.

Intervalo dinâmico

Quando utilizado no procedimento manual acima, este reagente fornece resultados que são lineares para 35 mg/dL. Os protocolos para instrumentos automatizados pode necessitar de diferenças em volumes de reagentes e amostras que podem afectar o intervalo dinâmico. Consulte a ficha de dados de aplicação adequada.

Exactidão

Os resultados obtidos com Reagente bilirrubina enzimático Dri-STAT na análise de soro normal e fora do normal ($n = 50$) mostraram correlação ($r = 0,9997$, inclinação = 1,045 e intercepção = 0,18 mg/dL, quando comparado com um método Jendrassik amplamente utilizado.

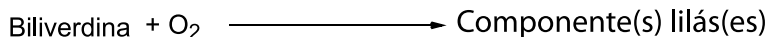
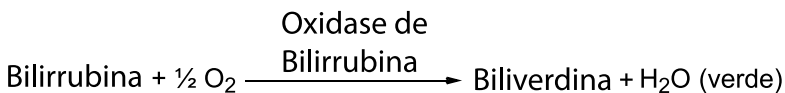
LIMITAÇÕES

Na presença de hemoglobina (100 mg/dL), os valores de bilirrubina são reduzidos em 5%.

Foi compilada uma lista de medicamentos e outras substâncias que alteram os níveis de bilirrubina total ou interferem com a sua determinação, por Young et al.⁶

PROCEDIMENTO

A sequência de reacção empregada na análise de bilirrubina é a seguinte:



A alteração de absorção total no intervalo de 405 nm a 465 nm é proporcional à concentração de bilirrubina na amostra.

REAGENTES

Ingredientes activos	Concentração de Reagente, conforme Formulado
Oxidase de Bilirrubina Reagente de Enzimas (microbial)	25000 U/l

O tampão fornecido contém 100 mmol/L tris (hidroximetil) amino metano, pH $8,2 \pm 0,2$.

Além do Reagente de Bilirrubina Enzimático Dri-STAT, a realização do teste requer um calibrador de bilirrubina e dispositivos capazes de entrega com precisão de amostras, standards e reagentes, bem como medição precisa da absorção.

Essas instruções destinam-se a utilização em testes com instrumentação manual. Encontram-se disponíveis, mediante solicitação, instruções específicas para utilização do reagente em aparelhos automatizados seleccionados.

Parâmetros do sistema

Comprimento de onda	465 nm
Temperatura de incubação	37 °C
Modo	Absorção
Intervalo de absorvância	0 a 2 A
Extensão do caminho na cuvete	1,0 cm
Tempo de reacção	5 minutos
Volume de amostra	0,05 mL
Volume do tampão	1,00 mL
Volume do reagente enzimático	0,08 mL

1. Adicione o tampão de 1,0 mL para limpar a tina. Coloque a tina no espectrofotómetro e ajuste a leitura de absorção para zero.
2. Adicione 0,05 mL de calibrador ou amostra e misture bem.
3. Registe as absorções iniciais do calibrador e das amostras (A_0).
4. Adicione 0,08 mL de Reagente de Enzimas, misture bem e incube a 37 °C durante pelo menos 5 minutos.
5. Registe as absorções finais do calibrador e as amostras (A_f).
6. Calcule $\Delta A = A_0 - A_f$ para o calibrador (ΔA_c) e amostras (ΔA_s).

CÁLCULOS

Calcule os níveis totais de bilirrubina do seguinte modo:

$$\text{Bilirrubina Total (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C é o valor em mg/dL do calibrador utilizado.

NOTAS

1. Para evitar derivações, as absorções finais (A_f) não devem ser lidas durante mais de uma hora após a adição de Reagente de Enzimas.
2. Se forem observados níveis de bilirrubina totais invulgarmente elevados, (> 35 mg/dL), dilua o soro com soro fisiológico e volte a analisar. Multiplique os resultados pelo factor de diluição. Recomenda-se uma diluição de 3, isto é, 0,1 mL de soro + 0,2 mL de soro fisiológico.
3. Esta análise pode ser efectuada à temperatura ambiente, aumentando o período de incubação para 10 minutos.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

É recomendável que os calibradores ou controlos normais e fora do normal sejam incluídos em cada conjunto de análises. Deve ser utilizado material de controlo disponível comercialmente, com dados estabelecidos confirmados por um laboratório de referência. O valor atribuído do material de controlo deve ser confirmado por esta metodologia.

Outros factores que não o reagente que podem afectar o desempenho deste teste incluem função adequada do instrumento, limpeza dos objectos de vidro e das tinas e precisão da amostra ou pipetagem de reagente.

Dri-STAT® enzymatisk bilirubinreagens

REF 683802

Til *In Vitro* diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens er beregnet til brug til **in vitro**-diagnostisk bestemmelse af total bilirubin i serum og plasma.

OVERSIGT

Der har været anvendt adskillige metoder til måling af total bilirubin, hvoraf de fleste er baseret på bilirubins reaktion med diazoteret sulfanilsyre, hvorved der produceres et blåt pigment.^{1,2} For nylig er et enzym blevet beskrevet, som katalyserer oxideringen af bilirubin, hvilket giver anledning til et fald i det karakteristiske gule absorptionsbånd.^{3,4} Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens udnytter dette enzym, bilirubinoxidase. I det medfølgende analysemedium kan total bilirubin bestemmes ved at måle faldet i absorbansen i området 405 nm til 465 nm.

KLINISK BETYDNING

Målingen af total bilirubin i serum eller plasma er af betydning ved diagnosticering af hæmolytiske sygdomme, galdegangsobstruktion, hepatitis og cirrhosis.

KLARGØRING

Denne vejledning vedrører klargøring af reagens til brug i den nedenfor beskrevne manuelle procedure. Applikationsdataark til specifikke automatiske instrumenter kan angive en anden procedure, som skal følges.

Bufferen leveres klar til brug. Rekonstitution af enzymreagenset skal udføres ved forsigtig tilsætning af destilleret vand. Mængden af vand, der skal tilsættes, fremgår af etiketten på hætteglasset. Bland forsigtigt for at sikre en fuldstændig opløsning. MÅ IKKE RYSTES UNDER OPLØSNING.

OPBEVARING OG STABILITET

Reagenset er stabilt til udløbsdatoen, der står på etiketten, når det opbevares ved 2 °C til 8 °C. Det rekonstituerede enzymreagens er stabilt i otte timer ved 20 °C til 25 °C, syv dage ved 2 °C til 8 °C eller tre dage ved -15 °C til -20 °C. Enzymreagenset må kun nedfryses én gang. Må ikke optøs ved temperaturer på over 30 °C eller optøs uden forsigtig blanding.

PRÆPARATHÅNDTERING

Præparater til analyse kan være serum eller plasma opsamlet på passende vis. EDTA er det anbefalede antikoagulant til plasmapræparater. Total bilirubin i klare præparater har vist sig at være stabil i adskillige timer ved stuetemperatur og i op til syv dage ved nedkøling og beskyttet mod lys.⁵

FORVENTEDE VÆRDIER

0,1 til 1,0 mg/dL

Det anbefales, at det enkelte laboratorium etablerer sit eget normalområde for det område, hvor det er beliggende. De ovenfor anførte værdier stammer fra 105 donorer.

PRÆSTATION

Præcision

Præcisionen inden for samme dag (± 1 S.D.) ved analyse af 20 replikater fandtes at være 3,8 %, 0,9 %, 0,8 % og 0,9 % ved middelværdier på henholdsvis 0,78, 2,23, 3,87 og 7,80 mg/dL. Dag til dag-præcisionen (± 1 S.D.) over en periode på tyve dage fandtes at være 4,3 %, 0,9 %, 1,4 % og 0,9 % for middelværdier på henholdsvis 1,3, 5,7, 10,3 og 18,3 mg/dL.

Sensitivitet

Ved anvendelse af den ovenfor beskrevne procedure er analysens følsomhed sådan, at $\Delta A = 0,028$ på det nærmeste svarer til 1 mg/dL bilirubin.

Dynamisk værdiområde

Når reagenset anvendes i ovenstående manuelle procedure, giver det resultater, som er lineære til 35 mg/dL. Protokoller til automatiske instrumenter kan foreskrive andre prøve- og reagensvolumener, hvilket kan påvirke det dynamiske område. Der henvises til det pågældende applikationsdatablad.

Nøjagtighed

Resultater opnået med Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens til analyse af normale og abnorme sera ($n = 50$) viste en korrelation (r) = 0,9997, hældning = 1,045, og skæringspunkt = 0,18 mg/dL ved sammenligning med en bredt anvendt Jendrassik-metode.

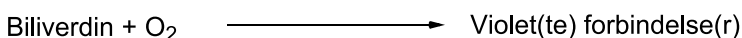
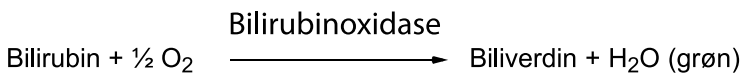
BEGRÆNSNINGER

Ved tilstedeværelse af hæmoglobin (100 mg/dL), reduceres bilirubinværdierne med 5 %.

Young et al. har samlet en liste med lægemidler og andre stoffer, der ændrer den totale bilirubinkoncentration eller interfererer med bestemmelsen.⁶

PROCEDURE

Reaktionssekvensen, der anvendes i bilirubinanalysen, er som følger:



Ændringen i total absorbans i området 405 nm til 465 nm er proportional med bilirubinkoncentrationen i prøven.

REAGENSER

Aktive ingredienser	Koncentration i reagens som formuleret
Enzymreagenset bilirubinoxidase (mikrobielt)	25000 U/l

Den medfølgende buffer indeholder 100 mmol/L tris (hydroxymethyl) aminomethan, pH 8,2 ± 0,2.

Ud over Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens kræver udførelsen af denne analyse en bilirubinkalibrator og udstyr, der er i stand til nøjagtig levering af prøver, standarder og reagenser samt nøjagtig måling af absorbans.

Disse instruktioner er beregnet til brug ved test, som bruger manuel instrumentation. Specifikke instruktioner for reagensbrug på valgte, automatiserede instrumenter er tilgængelig ved anmodning.

Systemparametre

Bølgelængde	465 nm
Inkuberingstemperatur	37 °C
Modus	Absorbans
Absorbansværdiområde	0 til 2 A
Kuvettebanelængde	1,0 cm
Reaktionstid	5 minutter
Prøvevolumen	0,05 mL
Buffervolumen	1,00 mL
Enzymreagensvolumen	0,08 mL

1. Tilsæt 1,0 mL buffer til en ren kuvette. Placer kuvetten i spektrofotometeret, og justér absorbansudlæsningen til nul.
2. Tilsæt 0,05 mL kalibrator eller prøve, og bland grundigt.
3. Registrér kalibratorens og prøvernes indledende absorbans (A_0)
4. Tilsæt 0,08 mL enzymreagens, bland grundigt og inkubér ved 37 °C i mindst fem minutter.
5. Registrér endelige absorbanser for kalibrator og prøver (A_f).
6. Beregn $= \Delta A_0 - A_f$ for kalibrator (ΔA_c) og prøver (ΔA_s).

BEREGNING

Beregn den totale bilirubinkoncentration som følger:

$$\text{Total bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C er koncentrationen af den anvendte kalibrator i mg/dL.

NOTATER

1. For at undgå afdrift må endelig absorbans (A_f) ikke aflæses senere end én time efter tilsætning af enzymreagenset.
2. Hvis der ses en usædvanligt høj total bilirubinkoncentration (> 35 mg/dL), skal serum fortyndes med saltvand og analysen gentages. Resultatet ganges med fortyndingsfaktoren. En fortynding på 3 gange, dvs. 0,1 mL serum + 0,2 mL saltvand anbefales.
3. Denne analyse kan udføres ved stuetemperatur, hvis inkuberingstiden forlænges til ti minutter.

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

Det anbefales, at der medtages normale og abnorme kontroller eller kalibratorer i hvert analysesæt. Til kvalitetskontrol kan der anvendes kommercielt tilgængelige kontrolmaterialer hvis data er blevet bekræftet af et referencelaboratorium. Kontrolmaterialets tildelte værdi skal bekræftes på denne måde.

Faktorer, som kan påvirke denne analyses ydelse, omfatter foruden reagenset også korrekt instrumentfunktion, glasartiklernes og kuvetternes rengøring og præcisionen hvormed prøven eller reagenset afpipetteres.

Dri-STAT® Enzymatic Bilirubin Reagent

REF 683802

För *in vitro* diagnostiskt bruk

AVSEDD ANVÄNDNING

Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent är avsedd för användning vid *in vitro*-diagnostisk bestämning av total bilirubin i serum och plasma.

SAMMANFATTNING

Mätningen av total bilirubin har utförts med talrika metoder, där de flesta baseras på bilirubins reaktion med diazoterad sulfanilsyra för produktion av blå pigment.^{1,2} Nyligen har ett enzym beskrivits som katalyserar oxidationen av bilirubin och producerar en förlust i det karakteristiska gula absorptionbandet^{3,4}. Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent använder detta enzym, bilirubinoxidas. I medföljande analysmedium kan total bilirubin bestämmas genom att mäta absorptionsminskningen i intervallet 405 nm till 465 nm.

KLINISK SIGNIFIKANS

Mätning av total serum- eller plasmabilirubin är av värde vid diagnos av hemolytiska åkommor, biliär obstruktion, hepatit och cirros.

BEREDNING

Dessa instruktioner gäller beredning av reagensen som ska användas vid den manuella proceduren, som redovisas nedan. Applikationsdatablad för speciella automatiska instrument kan ange en annan procedur, som ska följas.

Bufferten medföljer och är klar för användning. Utspädning av Enzyme Reagent ska utföras genom att varsamt tillsätta destillerat vatten. Mängden vatten som ska tillsättas anges på flaskans etikett. Blanda varsamt så att fullständig lösning erhålls. FÅR EJ UPPLÖSAS GENOM OMSKAKNING.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Reagensen förblir stabil till utgångsdatumet som anges på etiketten vid förvaring vid 2 °C till 8 °C. Utspädd Enzyme Reagent förblir stabil i åtta timmar vid förvaring vid 20 °C till 25 °C, sju dagar vid 2 °C till 8 °C, eller trettio dagar vid -15 °C till -20 °C. Enzyme Reagent får endast frysas en gång. Får inte tinas vid temperaturer som överstiger 30 °C eller tinas utan varsam blandning.

PROVHANTERING

Testproven kan vara serum eller plasma, som insamlats på lämpligt sätt. EDTA är den antikoagulant som rekommenderas för plasmaprover. Total bilirubin i klara prov har rapporterats förbli stabila i flera timmar vid rumstemperatur och i upp till sju dagar i kylskåp och skyddad från ljus.⁵

FÖRVÄNTAT VÄRDE

0,1 till 1,0 mg/dL

Det rekommenderas, att varje laboratorium fastställer det normala omfånget för området i vilket det befinner sig. Värdena som angivits ovan har hämtats från 105 donatorer.

PRESTANDA

Precision

Under dagen-precisionen (± 1 S.D.) hos tjugo upprepningar befanns vara 3,8 %, 0,9 %, 0,8 % och 0,9 % för genomsnittsvärden på 0,78, 2,23, 3,87 respektive 7,80 mg/dL. Dag-till-dag-precisionen (± 1 S.D.) över en tjugodagarsperiod befanns vara 4,3 %, 0,9 %, 1,4 % och 0,9 % för genomsnittsvärden på 1,3, 5,7, 10,3 respektive 18,3 mg/dL.

Sensitivitet

Vid användning av proceduren som beskrivs ovan, är analysens känslighet sådan att $\Delta A = 0,028$ är ungefär lika med 1 mg/dL bilirubin.

Dynamikområde

Vid användning i den manuella proceduren ovan, ger den här reagensen resultat som är i linje med 35 mg/dL. Protokoll för automatiserade instrument kan kräva olikheter vad gäller prov och reagensvolym, som kan få effekt på det dynamiska omfånget. Studera lämpligt applikationsdatablad.

Noggrannhet

Resultat som erhållits med Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent i analysen av normala och onormala sera ($n = 50$), uppvisade en korrelation (r) = 0,9997, lutning (slope) = 1,045 och skärningspunkt (intercept) = 0,18 mg/dL vid jämförelse med en allmänt använd Jendrassik-metod.

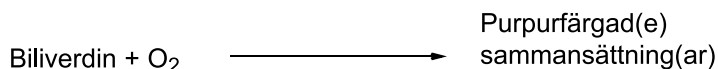
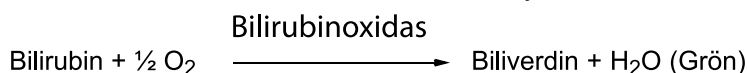
BEGRÄNSNINGAR

I närvaro av hemoglobin (100 mg/dL), reduceras bilirubinvärdena med 5 %.

En lista med läkemedel och andra substanser som förändrar nivåerna av total bilirubin eller påverkar dess bestämning negativt har sammanställts av Young et al.⁶

PROCEDUR

Reaktionssekvensen som används vid analysen av bilirubin är följande:



Den totala absorptionsändringen i intervallet 405 nm till 465 nm är proportionell till koncentrationen av bilirubin i provet.

REAGENSER

Aktiva ingredienser	Koncentration i reagensen enligt deklaration
Enzyme Reagent Bilirubinoxidas (mikrobisk)	25000 U/l

Medföljande buffert innehåller 100 mmol/L tris(hydroximetyl)aminometan, pH 8,2 ± 0,2.

Förutom Dri-STAT Enzymatic Bilirubin Reagent kräver utförandet av testet en bilirubinkalibrator och utrustning, som korrekt kan avlämna prov, standarder och reagens, liksom noggrann mätning av absorption.

Dessa instruktioner är avsedda för tester med manuell instrumentering. Specifika instruktioner för reagensanvändning med utvalda automatiserade instrument finns att tillgå på begäran.

Systemparametrar

Våglängd	465 nm
Inkubationstemperatur	37 °C
Läge	Absorbans
Absorbansområde	0 till 2 A
Kyvettbredd	1,0 cm
Reaktionstid	5 minuter
Provvoly	0,05 mL
Buffertvoly	1,00 mL
Enzymreagensvoly	0,08 mL

1. Tillsätt 1,0 mL buffert i en ren kyvett. Placera kyvetten i spektrofotometern och justera absorptionsvärdet till noll.
2. Tillsätt 0,05 mL av kalibrator eller prov och blanda väl.
3. Registrera initial kalibrator- och provabsorption (A_0).
4. Tillsätt 0,08 mL Enzyme Reagent, blanda väl och placera i inkubator (37 °C) i minst fem minuter.
5. Registrera slutlig kalibrator- och provabsorption (A_f).
6. Beräkna $\Delta A = A_0 - A_f$ för kalibrator (ΔA_c) och prov (ΔA_s).

BERÄKNING

Beräkna totala bilirubinnivåer enligt följande:

$$\text{Total bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C är värdet i mg/dL i den kalibrator som används.

ANTECKNINGAR

1. För att undvika drift, bör slutliga absorbanser (A_f) avläsas senast en timme efter att Enzyme Reagent tillsatts.
2. Om onormalt höga total bilirubinnivåer observeras, (> 35 mg/dL) späds serumet ut med saltlösning och analysen görs om. Multiplicera resultaten med utspädningsfaktorn. En utspädning med 3, dvs. 0,1 mL serum + 0,2 mL saltlösning rekommenderas.
3. Denna analys kan utföras i rumstemperatur genom att öka inkubationsperioden till tio minuter.

KVALITETSKONTROLLPROCEDURER

Det anbefales at normale og onormale kontroller, eller kalibratorer, er inkludert i varje analysset. Kommerisielt tilgjengelig kontrollmateriale med fastst lde data som bekreftats av ett referenslaboratorium kan användas för kvalitetskontroll. Det tildelte värde hos kontrollmateriale måste bekreftas gjennom denne metodologi.

Faktorer, andre  n reagensen, som kan p verke prestansen hos dette test  r bl a korrekt instrumentfunksjon, hur rene glasf rem len og kyvetterne år og hur noga pipetteringen av prov og reagens utförs.

Dri-STAT[ ] enzymatisk bilirubinreagens

REF 683802

Til *In Vitro* diagnostisk bruk

BRUKSOMRÅDE

Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens skal brukes i **in vitro** diagnostiske fastsettelse av totalt bilirubin i serum og plasma.

SAMMENDRAG

Måling av totalt bilirubin har vært gjennomført med en rekke metoder, de fleste av disse er basert på reaksjonen til bilirubin med diazotert sulfanilsyre for   produsere et bl tt pigment.^{1,2} Nylig er det blitt beskrevet et enzym som katalyserer oksideringen av bilirubin og produserer et tap av det karakteristiske, gule absorpsjonsb ndet^{3,4}. Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens gjør bruk av dette enzymet, bilirubin oksidase. I det leverte pr vemediet kan totalt bilirubin fastsettes ved at man måler nedgangen i absorpsjon i området 405 nm til 465 nm.

KLINISK BETYDNING

Målingen av totalt bilirubin i serum eller plasma er nyttig for diagnostiseringen av hemolytiske lidelser, galleobstruksjon, hepatitt og kirrhose.

FORBEREDELSE

Disse instruksjonene gjelder klargøring av reagens til bruk i den manuelle prosedyren som presenteres nedenfor. Applikasjonsdatablader for spesifikke, automatiserte instrumenter kan vise en annen prosedyre som skal følges.

Bufferen leveres klar til bruk. Rekonstitusjon av enzymreagensen skal utføres ved at det forsiktig tilsettes destillert vann. Mengden vann som skal tilsettes, er spesifisert på flaskeetiketten. Bland forsiktig for fullstendig oppl sing. IKKE RIST FOR   L SE OPP.

OPPBEVARING OG STABILITET

Reagensen er stabil til utløpsdatoen som vises på etiketten, n r den lagres ved 2  C til 8  C. Rekonstituert enzymreagens er stabil i åtte timer ved 20  C til 25  C, syv dager ved 2  C til 8  C, eller tretti dager ved -15  C til -20  C. Enzymreagensen kan bare frysas én gang. Skal ikke tines i temperaturer over 30  C, eller tines uten forsiktig blanding.

PRØVEHÅNDTERING

Testprøver kan være serum eller plasma, tappet på en passende m te. EDTA er den anbefalte antikoagulanten for plasmaprøver. Totalt bilirubin i gjennomsl ktige prøver er rapportert   være stabile i flere timer i romtemperatur og i opptil syv dager i k leskap og beskyttet mot lys.⁵

FORVENTEDE VERDIER

0,1 til 1,0 mg/dL

Det anbefales at hvert laboratorium fastsetter normalområdet for det geografiske området det ligger i. De ovennevnte verdiene er utledet fra 105 givere.

PRESTASJON

Presisjon

Innen-dager-presisjonen (± 1 S.D.) for tjue replikater ble funnet   være 3,8 %, 0,9 %, 0,8 %, og 0,9 % for middelverdier på henholdsvis 0,78, 2,23, 3,87 og 7,80 mg/dL. Dag-til-dag-presisjonen (± 1 S.D.) i en tjue-dagersperiode ble funnet   være 4,3 %, 0,9 %, 1,4 %, og 0,9 % for middelverdier på henholdsvis 1,3, 5,7, 10,3, og 18,3 mg/dL.

Sensitivitet

Når de ovennevnte prosedyrene benyttes, er testsensitiviteten slik at $\Delta A = 0,028$ tilsvarer omtrent 1 mg/dL bilirubin.

Dynamisk verdiområde

Når denne reagensen brukes i ovennevnte prosedyre, gir den resultater som er lineære til 35 mg/dL. Protokoller for automatiserte instrumenter kan kreve forskjeller i prøver og reagensvolum som kan påvirke det dynamiske området. Se det riktige applikasjonsdatabladet.

Nøyaktighet

Resultater som er oppnådd med Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens i test av normale og unormale sera (n=50) viste en korrelasjon (r)=0,9997, fall = 1,045, og kryssing = 0,18 mg/dl ved sammenligning med en mye brukt Jendrassik-metode.

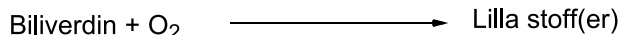
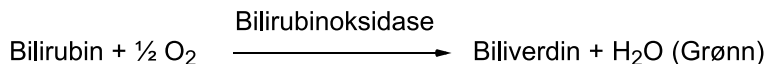
BEGRENSNINGER

I nærvær av hemoglobin (100 mg/dL) reduseres bilirubinverdiene med 5 %.

En liste over legemidler og andre stoffer som endrer nivået på totalt bilirubin eller forstyrrer fastsettelsen av det, er satt sammen av Young et al.⁶

PROSEDYRE

Reaksjonssekvensen som brukes i fastsettelse av bilirubin, er som følger:



Den totale absorpsjonsendringen i området 405 nm til 465 nm er proporsjonal med konsentrasjonen av bilirubin i prøven.

REAGENSER

Aktive ingredienser	Konsentrasjon i reagens som formulert
Enzymreagens bilirubin-oksidase (mikrobisk)	25000 U/l

Den leverte bufferen inneholder 100 mmol/L tris(hydroksimetil)aminomethane, pH 8,2 ± 0,2.

I tillegg til Dri-STAT enzymatisk bilirubinreagens, krever utføring av testen en bilirubinkalibrator og enheter som kan levere prøver nøyaktig, standarder og reagenser samt nøyaktig måling av absorpsjon.

Disse instruksjonene er beregnet til bruk ved tester som bruker manuell instrumentasjon. Spesifikke instruksjoner for reagensbruk på utvalgte, automatiserte instrumenter er tilgjengelig på forespørsel.

Systemparametre

Bølgelengde	465 nm
Inkuberingstemperatur	37 °C
Modus	Absorpsjon
Absorberingsverdiområde	0 til 2 A
Kyvettebanelengde	1,0 cm
Reaksjonstid	5 minutter
Prøvevolum	0,05 mL
Buffervolum	1,00 mL
Enzymreagensvolum	0,08 mL

1. Tilsett 1,0 mL buffer i en ren kuvette. Plasser kuvetten i spektrofotometeret og juster absorpsjonsavlesningen til null.
2. Tilsett 0,05 mL kalibrator eller prøve, og bland godt.
3. Registrer initiale absorpsjoner av kalibrator og prøver (A₀)
4. Tilsett 0,08 mL enzymreagens, bland godt og inkuber ved 37 °C i minst fem minutter.
5. Registrer endelige absorpsjoner for kalibrator og prøver (A_f).
6. Regn ut $\Delta A = A_0 - A_f$ for kalibrator (ΔA_c) og prøver (ΔA_s).

BEREGNING

Regn ut totale bilirubinnivåer som følger:

$$\text{Total Bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C er verdien i mg/dL for den kalibratoren som brukes.

MERKNADER

1. For å unngå drift, skal endelige absorpsjoner (A_f) ikke avleses senere enn en time etter tilsetting av enzymreagens.

2. Dersom det observeres et uvanlig høyt totalt bilirubinnivå, (>35 mg/dl), skal serumet fortynnes med saltvannsoppløsning, og testen gjøres på nytt. Resultatene multipliseres med fortynningsfaktoren. Det anbefales en fortynning på 3, dvs. 0,1 mL serum + 0,2 mL saltvannsoppløsning.
3. Denne testen kan utføres i romtemperatur ved at inkubasjonstiden økes til ti minutter.

KVALITETSKONTROLLPROSEDYRER

Det anbefales at normale og unormale kontroller, eller kalibratorer, inngår i hvert sett av tester. Kommersiell tilgjengelige kontrollmaterialer med etablerte data som er bekreftet av et referanselaboratorium, kan brukes til kvalitetskontroll. Den tildelte verdien på kontrollmaterialet må bekreftes ved bruk av denne metoden.

Andre faktorer enn reagens, som kan påvirke denne testen, er riktig instrumentfunksjon, renslighet på glassvarer og kuvetter, og nøyaktighet på prøver og reagenspipettering.

Αντιδραστήριο ενζυματικής χολερυθρίνης Dri-STAT®

REF 683802

Για *In Vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το αντιδραστήριο ενζυματικής χολερυθρίνης Dri-STAT προορίζεται για χρήση σε διαγνωστικούς προσδιορισμούς ολικής χολερυθρίνης *in vitro* σε ορό και πλάσμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μέτρηση της ολικής χολερυθρίνης έχει επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους, οι περισσότερες εκ των οποίων βασίζονται στην αντίδραση της χολερυθρίνης με diazotized σουλφανιλικό οξύ για την παραγωγή μπλε χρωστικής ουσίας.^{1,2} Πρόσφατα, υπήρξε περιγραφή ενός ενζύμου που καταλύει την οξειδωση της χολερυθρίνης και μειώνει την χαρακτηριστική απορρόφηση κίτρινης ζώνης^{3,4}. Το αντιδραστήριο ενζυματικής χολερυθρίνης Dri-STAT χρησιμοποιεί αυτό το ένζυμο, την οξειδάση χολερυθρίνης. Στο μέσο ανάλυσης που παρέχεται, η ολική χολερυθρίνη μπορεί να καθοριστεί μετρώντας τη μείωση απορρόφησης σε εύρος 405 nm έως 465 nm.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η μέτρηση της ολικής χολερυθρίνης ορού ή πλάσματος είναι χρήσιμη για τη διάγνωση αιμολυτικών διαταραχών, χολικής απόφραξης, ηπατίτιδας και κίρρωσης.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Αυτές οι οδηγίες ισχύουν για την προετοιμασία αντιδραστηρίου για χρήση στη μη αυτόματη διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω. Τα δελτία δεδομένων εφαρμογής για συγκεκριμένα αυτοματοποιημένα όργανα ενδέχεται να υποδεικνύουν διαφορετική διαδικασία που θα πρέπει να ακολουθηθεί.

Το ρυθμιστικό διάλυμα που παρέχεται είναι έτοιμο για χρήση. Η ανασύσταση του αντιδραστηρίου ενζύμου θα πρέπει να επιτυγχάνεται με προσεκτική προσθήκη αποσταγμένου νερού. Η ποσότητα νερού που πρέπει να προστεθεί καθορίζεται στην ετικέτα φιαλιδίου. Αναμείξτε απαλά μέχρι την επίτευξη πλήρους διαλύματος. ΜΗΝ ΑΝΑΚΙΝΕΙΤΕ ΓΙΑ ΔΙΑΛΥΣΗ.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα αν αποθηκευτεί σε 2 °C έως 8 °C. Το ανασυσταθέν αντιδραστήριο ενζύμου παραμένει σταθερό για οχτώ ώρες σε 20 °C έως 25 °C, για επτά ημέρες σε 2 °C έως 8 °C, ή τριάντα μέρες σε -15 °C έως -20 °C. Το αντιδραστήριο ενζύμου μπορεί να καταψυχθεί μόνο μια φορά. Μην αποψύχετε σε θερμοκρασίες άνω των 30 °C ή μην αποψύχετε χωρίς απαλή ανάμειξη.

ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Τα δείγματα δοκιμής μπορεί να είναι δείγματα ορού ή πλάσματος, που έχουν συλλεγεί με τον κατάλληλο τρόπο. Το EDTA είναι το αντιπηκτικό που συνιστάται για τα δείγματα πλάσματος. Η ολική χολερυθρίνη σε καθαρά δείγματα παραμένει σταθερή για αρκετές ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και για διάρκεια έως επτά ημερών όταν ψύχεται και παραμένει μακριά από το ηλιακό φως.⁵

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

0,1 έως 1,0 mg/dL

Συνιστάται σε κάθε εργαστήριο να καθορίζει ένα κανονικό εύρος για την περιοχή που βρίσκεται. Οι τιμές που αναφέρονται παραπάνω προέρχονται από 105 δότες.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Ακρίβεια

Οι τιμές ακριβείας εντός ημέρας (± 1 T.A.) είκοσι επαναλήψεων είναι 3,8%, 0,9%, 0,8%, και 0,9% για μέσες τιμές 0,78, 2,23, 3,87 και 7,80 mg/dL αντίστοιχα. Οι καθημερινές τιμές ακριβείας (± 1 T.A.) για μια περίοδο είκοσι ημερών είναι 4,3%, 0,9%, 1,4% και 0,9% για μέσες τιμές 1,3, 5,7, 10,3 και 18,3 mg/dL αντίστοιχα.

Ευαισθησία

Χρησιμοποιώντας τη διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω, η ευαισθησία της ανάλυσης είναι τέτοια που $\Delta A = 0,028$ είναι περίπου αντίστοιχο με 1 mg/dL χολερυθρίνης.

Δυναμικό εύρος

Στην παραπάνω μη αυτόματη διαδικασία, αυτό το αντιδραστήριο παρέχει γραμμικά αποτελέσματα 35 mg/dL. Τα πρωτόκολλα για αυτοματοποιημένα όργανα μπορεί να ευθύνονται για διαφορές σε δείγματα και όγκους δείγματος που ενδέχεται να επηρεάσουν το δυναμικό εύρος. Ανατρέξτε στο κατάλληλο δελτίο δεδομένων εφαρμογής.

Σχετική Ακρίβεια

Αποτελέσματα που λήφθηκαν με το αντιδραστήριο ενζυματικής χολερυθρίνης Dri-STAT στην ανάλυση φυσιολογικών ή μη φυσιολογικών ορών ($n = 50$) κατέδειξαν έναν συσχετισμό (r) = 0,9997, κλίση = 1,045 και τομή = 0,18 mg/dL σε σύγκριση με την ευρέως διαδομένη μέθοδο Jendrassik.

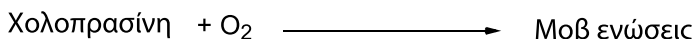
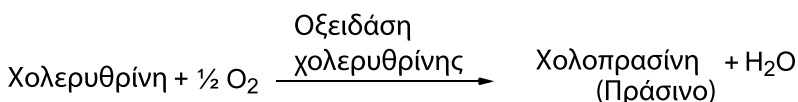
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Με παρουσία αιμοσφαιρίνης (100 mg/dL), οι τιμές χολερυθρίνης μειώνονται κατά 5%.

Μια λίστα φαρμάκων και άλλων ουσιών που μεταβάλλουν τα επίπεδα ολικής χολερυθρίνης ή παρεμβαίνουν στον προσδιορισμό της έχει καθοριστεί από τους Young et al.⁶

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η ακολουθία αντιδράσεων που χρησιμοποιείται στην ανάλυση της χολερυθρίνης είναι η παρακάτω:



Η αλλαγή συνολικής απορρόφησης στο εύρος 405 nm έως 465 nm είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση χολερυθρίνης στο δείγμα.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Ενεργά συστατικά

Οξειδάση χολερυθρίνης
αντιδραστήριου ενζύμου
(μικροβιακή)

Συγκέντρωση στο
αντιδραστήριο όπως
σχηματίζεται
25000 U/l

Το ρυθμιστικό διάλυμα που παρέχεται περιέχει 100 mmol/L τρις-(υδροξυμεθυλ)αμινομεθάνη, pH 8,2 ± 0,2.

Εκτός από το αντιδραστήριο ενζυματικής χολερυθρίνης Dri-STAT, η απόδοση της δοκιμής απαιτεί βαθμονομητή χολερυθρίνης και συσκευές για ακριβή δείγματα, πρότυπα και αντιδραστήρια, καθώς και ακριβή μέτρηση της απορρόφησης.

Οι οδηγίες αυτές ενδείκνυνται για χρήση σε εξετάσεις, στις οποίες χρησιμοποιούνται χειροκίνητα όργανα. Ειδικές οδηγίες για χρήση του αντιδραστήριου σε επιλεγμένα αυτοματοποιημένα όργανα διατίθενται μετά από αίτηση.

Παράμετροι συστήματος

Μήκος κύματος	465 nm
Θερμοκρασία επώασης	37 °C
Τρόπος λειτουργίας	Απορρόφηση
Εύρος απορρόφησης	0 έως 2 A
Μήκος διαδρομής κυψελίδας	1,0 cm
Χρόνος αντίδρασης	5 λεπτά
Όγκος δείγματος	0,05 mL
Όγκος ρυθμιστικού διαλύματος	1,00 mL
Όγκος αντιδραστήριου ενζύμου	0,08 mL

1. Προσθέστε 1,0 mL ρυθμιστικού διαλύματος σε καθαρή κυψελίδα. Τοποθετήστε την κυψελίδα στο φασματοφωτόμετρο και ρυθμίστε την απορρόφηση στο μηδέν.
2. Προσθέστε 0,05 mL βαθμονομητή ή δείγματος και αναμείξτε καλά.
3. Καταγράψτε τις αρχικές απορροφήσεις βαθμονομητή και δειγμάτων (A_0)
4. Προσθέστε 0,08 mL αντιδραστήριου ενζύμου, αναμείξτε καλά και επωάστε στους 37 °C για τουλάχιστον πέντε λεπτά.
5. Καταγράψτε τις τελικές απορροφήσεις του βαθμονομητή και των δειγμάτων (A_f).

6. Υπολογίστε $\Delta A = A_0 - A_f$ για βαθμονομητή (ΔA_c) και δείγματα (ΔA_s).

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Υπολογίστε τα επίπεδα ολικής χολερυθρίνης ως εξής:

$$\text{Ολική χολερυθρίνη (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C είναι η τιμή σε mg/dL του βαθμονομητή που χρησιμοποιείται.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

1. Για την αποφυγή απόκλισης, οι τελικές απορροφήσεις (A_f) δεν θα πρέπει να μετρούνται αργότερα από μια ώρα μετά την προσθήκη του αντιδραστήριου ενζύμου.
2. Αν παρατηρηθούν ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα ολικής χολερυθρίνης, ($> 35 \text{ mg/dL}$), αραιώστε τον ορό με φυσιολογικό ορό και επαναλάβετε την ανάλυση. Πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με τον συντελεστή αραιώσης. Συνιστάται αραιώση με 3, πχ., 0,1 mL ορού + 0,2 mL φυσιολογικού ορού.
3. Αυτή η ανάλυση μπορεί να εκτελεστεί σε θερμοκρασία δωματίου αυξάνοντας την περίοδο επώασης σε δέκα λεπτά.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Συνιστάται φυσιολογικοί και μη φυσιολογικοί μάρτυρες, ή βαθμονομητές, να περιλαμβάνονται σε κάθε σει αναλύσεων. Υλικό μάρτυρα με καθορισμένα δεδομένα, επιβεβαιωμένα από εργαστήριο αναφοράς που κυκλοφορούν στο εμπόριο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για έλεγχο ποιότητας. Η καθορισμένη τιμή του υλικού μάρτυρα πρέπει να επιβεβαιώνεται από αυτή τη μεθοδολογία.

Παράγοντες πέραν του αντιδραστήριου που ενδέχεται να επηρεάσουν την απόδοση της δοκιμής είναι η σωστή λειτουργία του οργάνου, η καθαριότητα των γυάλινων εξαρτημάτων και των κυψελίδων, και η ακρίβεια του δείγματος ή η διοχέτευση αντιδραστήριου με πιπέτα.

ドライスタット酵素ビリルビン試薬

REF 683802

体外診断用医薬品

使用目的

Dri-STAT酵素ビリルビン試薬は、血清と血漿に含まれる総ビリルビンをインビトロで診断する際に用いられるものである。

概要

総ビリルビンを測定する方法は数多く存在するが、その多くは青色色素^{1,2}を生み出すジアゾ化スルファニル酸の反応に基づいている。最近では、酵素はビリルビンの酸化を触媒し、特徴的な黄色い吸収帯^{3,4}の喪失を生じさせるものとして説明されている。Dri-STAT酵素ビリルビン試薬はそうした酵素、ビリルビン酸化酵素を採用している。提供されたアッセイ培地で、405 nmから465 nmの範囲における吸収度の低下を測定することで総ビリルビンを判定することができる。

臨床的意義

総血清ビリルビンと総血漿ビリルビンの測定値は、溶血性疾患、胆道閉塞、肝炎、および肝硬変の診断において重要である。

製剤

ここに記載する指示は、以下に示す手順を手作業にて実施する際に使用される試薬の準備に関するものである。自動化された特定の器具のアプリケーションデータシートには、別の手順が指定されている場合がある。

緩衝液はすぐに使用できる状態で提供される。酵素試薬の再構成では、蒸留水を慎重に加えるべきである。加える水の量はバイアルのラベルに記載されている。軽く混ぜ合わせて、完璧な溶液を作ること。強く振って分解させないように注意すること。

貯法および安定性

2°Cから8°Cまでの環境に保存した場合、試薬はラベルに記載されている使用期限日まで安定した状態を保つ。再構成した酵素試薬は、20°Cから25°Cまでの環境で8時間、2°Cから8°Cまでの環境で7日間、-15°Cから-20°Cまでの環境で30日間安定した状態を保つ。酵素試薬の凍結は一回のみ行うことができる。30°Cを超える環境で溶かさないこと。また、軽く混ぜ合わせることなく溶かさないこと。

検体の取り扱い

適切な方法で収集された血清または血漿を試験片として使用することができる。EDTAは、血漿の試験片に推奨される抗凝固剤である。純粋な状態の試験片に含まれる総ビリルビンは、常温にて数時間安定性を保ち、凍結させた場合や日光から避けて保存した場合は7日間安定性を保つことが報告されている。⁵

期待値

0.1 ~ 1.0 mg/dL

各研究施設は、それが位置するエリアの正常範囲を確立することが推奨される。上に引用した値は、105人のドナーから採取されたものである。

性能

再現性

20のレプリケートの1日のうちの精度 (± 1 S.D.) は平均値0.78、2.23、3.87、および7.80 mg/dLにおいてそれぞれ3.8%、0.9%、0.8%、および0.9%であった。20日間における毎日の精度 (± 1 S.D.) は平均値1.3、5.7、10.3、および18.3 mg/dLにおいてそれぞれ4.3%、0.9%、1.4%、および0.9%であった。

感度

上記の手順を採用すると、アッセイの感度は $\Delta A = 0.028$ がビリルビン1 mg/dLとほぼ同等になる水準になる。

動的範囲

上記の手作業による手順で使用した場合、この試薬は35 mg/dLに対して直線性を有する結果をもたらす。自動化された器具のプロトコルは、ダイナミックレンジに影響を与える可能性がある異なる量のサンプルと試薬を求める場合がある。適切なアプリケーションデータシートを参照すること。

正確性

正常および異常な血清 ($n = 50$) のアッセイでDri-STAT酵素ビリルビン試薬を使用して求められた結果では、広く用いられるJendrassik法と比較して相関 (r) = 0.9997、傾き = 1.045、および切片 = 0.18 mg/dLが示された。

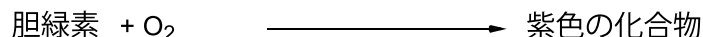
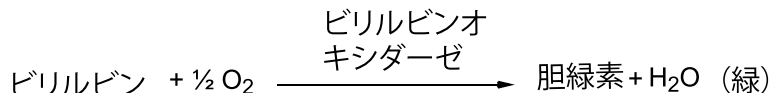
注意事項

ヘモグロビン (100 mg/dL) が存在する場合、ビリルビンの値は5%減少する。

総ビリルビンレベルを変化させる、またはそのレベルを判断する際に干渉する薬剤とその他の物質の一覧は、ヤングら⁶によって作成されている。

操作法

ビリルビンのアッセイで採用される反応シーケンスを以下に示す。



405 nmから465 nmまでの範囲における総吸収変化は、サンプル中のビリルビンの濃度に比例している。

試薬

反応に関与する成分	生成された試薬における濃度
酵素試薬ビリルビン酸化	25000 U/l
酵素 (微生物)	

提供される緩衝液は、100 mmol/L トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン、pH 8.2 $\pm$ 0.2を含有している。

試験を実施するには、Dri-STAT酵素ビリルビン試薬以外に、サンプル、基準液、および試薬を正確に提供し、吸収度を正確に測定することができるビリルビンのキャリブレータと装置が必要である。

以下に、手動で装置を操作する場合の手順を示します。試薬を任意の自動測定装置で使用する場合は特別な取り扱い方法については、当社にご請求ください。

システム パラメータ

波長	465 nm
インキュベーション温度	37 °C
モード	吸収度
吸光度範囲	0 ~ 2 A
キュベット行路長	1.0 cm
反応時間	5 分間
検体量	0.05 mL
緩衝液の量	1.00 mL
酵素試薬の量	0.08 mL

1. 緩衝液1,0mLを追加してキュベットをクリーニングする。キュベットを分光光度計の中に置いて、吸収度の読取値を0に調整する。
2. キャリブレーションまたはサンプルを0,05 mL追加して、よく混ぜ合わせる。
3. キャリブレーションとサンプルの初期吸収度を記録する。(A₀)
4. 酵素試薬0,08 mLを追加し、よく混ぜ合わせ、37°Cの環境で5分以上培養する。
5. キャリブレーションとサンプルの最終吸収度を記録する(A_f)。
6. キャリブレーション (ΔA_c) とサンプル (ΔA_s) について ΔA = A₀ - A_f を計算する。

計算

総ビリルビンレベルを以下のように計算する。

$$\text{総ビリルビン (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* Cは使用されたキャリブレーションの値で、単位はmg/dLである。

注記

1. ドリフトを回避するため、最終吸収度 (A_f) は酵素試薬を加えた後、1時間以上にわたり読み取ってはならない。
2. 異常に高い総ビリルビンレベルが観察される場合、(> 35 mg/dL)、アルカリ塩とリアッセイで血清を希釈する。結果を希釈係数で乗じる。3の希釈、すなわち血清0,1 mL + アルカリ塩0,2 mLが推奨される。
3. このアッセイは、培養期間を10分に拡大することで常温にて行うことができる。

精度管理手順

各アッセイにて、正常および異常な対照群、またはキャリブレーションを含めることが推奨される。品質管理には、基準となる研究施設により裏付けられた実証済みデータが添えられて市販されている管理材を使用することができる。管理材の割り当てられた値は、この方法によって裏付けなければならない。

この試験の結果に影響を与える可能性がある試薬以外の要素には、適切な器具の機能、ガラス製品とキュベットの清浄さ、およびサンプルや試薬のピペット操作の精度などがある。

Dri-STAT® 酶促胆红素试剂

REF 683802

用于 体外诊断

用途

Dri-STAT 酶促胆红素试剂适用于体外诊断来确定血清和血浆中的总胆红素。

概述

有多种方法可以测定总胆红素，大多数是依靠胆红素和重氮苯磺酸发生反应生成的蓝色色素^{1,2}。最近发现一种酶可以促进胆红素的氧化并破坏特有的黄色吸收带^{3,4}。Dri-STAT 酶促胆红素试剂正是采用了这种胆红素氧化酶。在所提供的化验培养基中，总胆红素可通过测量 405 nm 到 465 nm 范围内吸收度的减小来测定。

临床意义

测定血清或血浆总胆红素有助于对溶血障碍、胆管阻塞、肝炎和肝硬化的诊断。

制备

这些说明适用于准备用于以下手动程序的试剂。特定自动化仪器的应用程序数据表可能会指示需要遵循的其他程序。

备好缓冲液待用。酶检测试剂的复原应通过小心添加蒸馏水来完成。应添加的蒸馏水的量请见瓶子上的标签。轻轻搅拌使溶液充分混合均匀。不要摇动溶解。

贮藏和稳定性

在 2 °C 到 8 °C 的存储温度下，在标签上注明的截止日期之前，试剂会保持稳定状态。复原的酶检测试剂在 20 °C 到 25 °C 温度下可保持稳定状态八个小时，在 2 °C 到 8 °C 温度下可保持七天，在 -15 °C 到 -20 °C 温度下可保持三十天。酶检测试剂只能冷冻一次。溶解时温度不要超过 30 °C 并且要轻轻搅拌。

样本操作

试样可以是血清或血浆（以合适的方式收集）。EDTA 是建议用于血浆样本的抗凝剂。不受污染样本中的总胆红素在室温下可保持稳定状态好几个小时，在冷冻且避光保存条件下最多可保持七天。⁵

预计值

0.1 到 1.0 mg/dL

建议每个实验室都制定其所在区域的正常范围。上述值是根据 105 位供血者的实验结果而得到的。

分析性能

精确性

平均值 0.78、2.23、3.87 和 7.80 mg/dL 的二十次重复实验的日内精确度 (± 1 S.D.) 分别为 3.8%、0.9%、0.8% 和 0.9%。平均值 1.3、5.7、10.3 和 18.3 mg/dL 为期二十天的日间精确度 (± 1 S.D.) 分别为 4.3%、0.9%、1.4% 和 0.9%。

灵敏度

使用上述程序时，试剂的敏感性为 $\Delta A = 0.028$ ，大约相当于 1 mg/dL 胆红素。

动力学范围

当用于上述手动程序时，试剂所得到的结果与 35 mg/dL 成线性关系。自动化仪器的实验报告可能需要不同的样本和试剂体积，而这会影响动态范围。请参阅相应的应用程序数据表。

准确度

使用 Dri-STAT 酶促胆红素试剂进行正常和异常血清 ($n = 50$) 化验所得到的结果与广泛使用的 Jendrassik 方法所得到的结果进行比较时，其相关系数 (r) = 0.9997，斜率 = 1.045，截距 = 0.18 mg/dL。

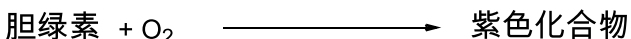
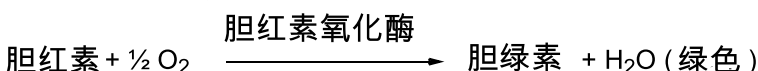
限制

如果有血红蛋白 (100 mg/dL)，则胆红素值会减小 5%。

Young et al 整理了会改变总胆红素或干扰其测定的药物和其他物质列表。⁶

操作步骤

胆红素测定中采用的反应序列如下：



405 nm 到 465 nm 范围内的总吸收变化与样本中的胆红素浓度成比例。

试剂

活性成分	计算得出的试剂浓度
酶检测试剂胆红素氧化酶 (微生物)	25000 U/l

所提供的缓冲液含有 100 mmol/L 参胺甲烷，pH 8.2 $\pm$ 0.2。

除了 Dri-STAT 酶促胆红素试剂外，测试还需要胆红素校准液和可准确提供样本、标准和试剂的装置以及准确的吸光率测量值。

这些说明适用于人工操作仪器进行的实验。如果需要关于某些自动分析仪器所用试剂的特别操作说明，可以向贝克曼库尔特公司索取。

系统参数	
波长	465 nm
保温温度	37 °C
模式	吸光率
吸光度范围	0 至 2 A
反应杯径长	1.0 cm
反应时间	5 分钟
样品体积	0.05 mL
缓冲液体积	1.00 mL
酶检测试剂体积	0.08 mL

1. 在一支干净试管中加入 1,0 mL 缓冲液将试管置于分光光度计中，然后将吸光率读数调整到零。
2. 添加 0,05 mL 的校准液或样本并混合均匀。
3. 记录校准液和样本的初始吸光率 (A_0)
4. 添加 0,08 mL 的酶检测试剂，混合均匀，并在 37 °C 温度下培养至少五分钟。
5. 记录校准液和样本的最后吸光率 (A_f)。
6. 为校准液 (ΔA_c) 和样本 (ΔA_s) 计算 $\Delta A = A_0 - A_f$ 。

计算

按如下公式计算总胆红素含量：

$$\text{总胆红素 (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C 是使用的校准液的值 (单位 mg/dL)。

注释

1. 为避免发生偏差，添加酶检测试剂后读取最后吸光率 (A_f) 的时间不能长于一个小时。
2. 如果发现总胆红素含量异常高 (> 35 mg/dL)，使用盐水稀释血清，然后重新化验。将结果与稀释系数相乘。建议稀释系数为 3，即 0.1 mL 血清 + 0.2 mL 盐水。
3. 在室温下将培养期延长到十分钟即可执行此化验。

质量控制规程

建议每一组化验中都包含正常和异常对照液或校准液。经参考实验室确认的市售对照材料可用于质量控制。必须按照此种方法确认对照材料的指定值。

影响测试结果的因素，除了试剂外，还包括仪器功能是否正常、玻璃器具和试管是否干净以及样本或试剂移液是否准确。

„Dri-STAT“® fermentinis bilirubino reagentas

REF 683802

Skirta *in vitro* diagnostikos tyrimams

NUMATYTOJI PASKIRTIS

„Dri-STAT“ fermentinis bilirubino reagentas skirtas naudoti **in vitro** diagnostiniam bendro bilirubino koncentracijos serume ir plazmoje nustatymui.

SANTRAUKA

Bendro bilirubino matavimai atlikti įvairiais metodais, dauguma kurių paremti bilirubino reakcija su diazotine sulfaniline rūgštimi, sudarančia mėlyną pigmentą.^{1,2} Pastaruoju metu aprašytas fermentas, kuris katalizuoja bilirubino oksidaciją ir sudaro būdingos geltonos spalvos absorbcinius junginius^{3,4}. „Dri-STAT“ fermentiniame bilirubino reagente ir yra naudojamas šis bilirubino oksidazės fermentas. Pateiktame tyrime bendras bilirubinas gali būti nustatomas nustatant absorbcijos sumažėjimą intervale nuo 405 iki 465 nm.

KLINIKINĖ REIKŠMĖ

Bendro bilirubino nustatymo serume ar plazmoje rodikliai pravartūs diagnozuojant hemolizinius sutrikimus, tulžies latakų obstrukciją, hepatitą ir cirozę.

PARUOŠIMAS

Šie nurodymai taikomi reagento paruošimui naudoti rankinės procedūros, aprašytos toliau, metu. Taikomuose duomenų lapuose, skirtuose specialioms automatinėms prietaisams, gali būti aprašyta kitokia procedūra, kurios turi būti laikomasi.

Buferis tiekiamas paruoštas naudoti. Fermentų reagentas atskiedžiamas atsargiai įpilant distiliuoto vandens. Reikalingas vandens kiekis nurodytas ant buteliuko etiketės. Švelniai sumaišyti, kad būtų gautas tirpalas. **NORINT IŠTIRPINTI NEKRATYTI.**

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentas, laikomas nuo 2 iki 8 °C temperatūroje, išlieka stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės. Atskiestas fermentų reagentas, laikomas nuo 20 iki 25 °C temperatūroje, išlieka stabilus aštuonias valandas, o laikomas nuo 2 iki 8 °C temperatūroje – septynias dienas, laikomas nuo -15 iki -20 °C temperatūroje – trisdešimt dienų. Fermentų reagentą galima užšaldyti tik vieną kartą. Netirpinkite aukštesnėje kaip 30 °C temperatūroje ir neleiskite ištirpti nemaišant.

BANDINIŲ TVARKYMAS

Gali būti tiriami serumo arba plazmos mėginiai, paimti tinkamu būdu. Plazmos mėginiams rekomenduojamas antikoaguliantas EDTA. Bendras bilirubinas švairiuose mėginiuose išlieka stabilus keletą valandų kambario temperatūroje ir iki septynių dienų – laikomas šaltai ir saugomas nuo šviesos.⁵

TIKĖTINOS VERTĖS

nuo 0,1 iki 1,0 mg/dL

Rekomenduojama kiekvienai laboratorijai nusistatyti vietovės, kurioje ji įsikūrusi, normos ribas. Toliau remiamasi duomenimis, gautais iš 105 donorų.

METROLOGINĖS CHARAKTERISTIKOS

Preciziškumas

Nustatytas dvidešimties pakartojimų vienos dienos tikslumas (± 1 stand. nuokr.) yra 3,8, 0,9, 0,8 ir 0,9 %, o vidutinės vertės – atitinkamai 0,78, 2,23, 3,87 ir 7,80 mg/dL. Kasdienis tikslumas (± 1 stand. nuokr.) dvidešimties dienų laikotarpiu buvo 4,3, 0,9, 1,4 ir 0,9 %, vidutinės vertės – atitinkamai 1,3, 5,7, 10,3 ir 18,3 mg/d.

Jautris

Taikant pirmiau aprašytą procedūrą tyrimo jautrumas yra toks, kad $\Delta A = 0,028$ maždaug atitinka 1 mg/dL bilirubino.

Dinaminis diapazonas

Jei procedūra atliekama rankiniu būdu, naudojant reagentą gaunami rezultatai, kurie atitinka 35 mg/dL. Automatinių prietaisų protokoluose gali būti numatyti skirtingi mėginių ir reagentų kiekiai, kurie gali keisti dinamikos ribas. Perskaitykite atitinkamą taikymo duomenų lapą.

Tikslumas

Pagal rezultatus, gautus naudojant „Dri-STAT“ fermentinį bilirubino reagentą, tiriant normos ribas atitinkantį ir neatitinkantį serumą ($n = 50$) nustatyta koreliacija (r) = 0,9997, nuolydis = 1,045, o atidėjimas koordinatų ašyje = 0,18 mg/dL, palyginti su plačiai naudojamu Jendrassik metodu.

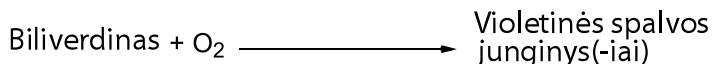
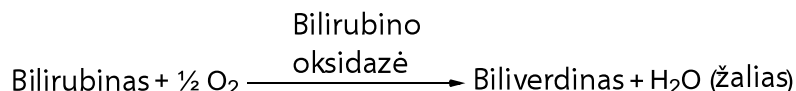
RIBOTUMAI

Jeigu yra hemoglobino (100 mg/dL), bilirubino vertės sumažėja 5 %.

Vaistų ir kitų medžiagų, kurios keičia bendro bilirubino koncentraciją arba turi įtakos jo nustatymui, sąrašą sudarė Young ir kt.⁶

DARBO EIGA

Bilirubino tyrimo metu reakcijos vyksta tokia seka:



Bendras absorbcijos pokytis diapazone nuo 405 iki 465 nm yra proporcingas bilirubino koncentracijai mėginyje.

**Veikliosios
sudedamosios
medžiagos**

Fermentų reagento
bilirubino oksidazė
(mikrobinė)

**Koncentracija reagente
kaip suformuluota**

25000 U/l

Tiekiamo buferio sudėtyje yra 100 mmol/L tris-(hidroksimetil)amino metano, pH 8,2 ± 0,2.

Be „Dri-STAT“ fermentinio bilirubino reagento, testui atlikti reikalingos bilirubino kalibravimo medžiagos ir tikslaus mėginio pateikimo priemonės, standartai ir reagentai, taip pat tikslus absorbcijos nustatymas.

Šiomis instrukcijomis reikia remtis atliekant tyrimus rankiniais prietaisais. Užsakius galima gauti reagento naudojimo nurodymus, skirtus atskiriems automatiniais prietaisams.

Sistemos parametrai

Bangos ilgis	465 nm
Inkubavimo temperatūra	37 °C
Režimas	Absorbcija
Absorbcijos spektras	0–2 A
Kiuvetės optinio kelio ilgis	1,0 cm
Reakcijos trukmė	5 minutės
Mėginio tūris	0,05 mL
Buferio tūris	1,00 mL
Fermentų reagento tūris	0,08 mL

1. Įpilti 1,0 mL buferio kiuvetei išvalyti. Įdėti kiuvetę į spektrofotometrą ir nustatyti absorbcijos nuostatas ties nuliu.
2. Įpilti 0,05 mL kalibratoriaus arba mėginio ir gerai išmaišyti.
3. Užrašyti pradinės kalibratoriaus ir mėginių absorbcijos vertes (A_0).
4. Įpilti 0,08 mL fermentų reagento, gerai išmaišyti ir inkubuoti 37 °C temperatūroje ne trumpiau kaip penkias minutes.
5. Užrašyti kalibratoriaus ir mėginių galutinės absorbcijos vertes (A_f).
6. Apskaičiuoti kalibratoriaus (ΔA_c) ir mėginių (ΔA_s) $\Delta A = A_0 - A_f$ vertes.

SKAIČIAVIMAS

Bendras bilirubino kiekis apskaičiuojamas taip:

$$\text{Bendras bilirubinas (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C – tai naudojamo kalibratoriaus vertė mg/dL.

PASTABOS

1. Siekiant išvengti nukrypimų, galutinė absorbcija (A_f) turėtų būti atliekama ne vėliau kaip praėjus vienai valandai po to, kai buvo pridėta fermentų reagento.
2. Jeigu nustatoma neįprastai aukšta bilirubino koncentracija (> 35 mg/dL), serumą reikia atskiesti fiziologiniu tirpalu ir tirti iš naujo. Rezultatus padauginti iš atskiedimo koeficiento. Rekomenduojamas 3 dalių atskiedimas, pvz., 0,1 mL serumo + 0,2 mL fiziologinio tirpalo.
3. Tyrimas gali būti atliekamas kambario temperatūroje, padidinus inkubacinį periodą iki dešimties minučių.

KOKYBĖS KONTROLĖS PROCEDŪROS

Rekomenduojama, kad kiekvieną tyrimų rinkinį sudarytų normos ribas atitinkančios ir normos ribų neatitinkančios kontrolinės medžiagos ir kalibratoriai. Kokybės kontrolei gali būti naudojamos komerciškai prieinamos kontrolinės medžiagos, kurių nustatyti duomenys yra patvirtinti etaloninėje laboratorijoje. Kontrolinių medžiagų nustatytos vertės turi būti patvirtintos šia metodologija.

Kiti faktoriai, be reagento, kurie gali turėti įtakos atliekant tyrimą: tinkamas prietaiso veikimas, stiklinių dalių ir kiuvečių švarumas ir mėginio ar reagento dozavimo pipete tikslumas.

Dri-STAT® enzimatiszus bilirubinreagens

REF 683802

In vitro diagnosztikai használatra

RENDELTETÉS

A Dri-STAT enzimatiszus bilirubinreagens a szérum és plazma összbilirubin-koncentrációjának **in vitro** diagnosztikai meghatározásában való használatra szolgál.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az összbilirubin-koncentráció mérése számos módszerrel végrehajtható, amelyek többsége a bilirubin és a diazónium-só reakcióján alapul, mely során kék pigment termelődik.^{1,2} Nemrégiben leírtak egy enzimet, amely a bilirubin oxidációját katalizálja, és veszteséget hoz létre a jellegzetes sárga abszorpciós sávban^{3,4}. A Dri-STAT enzimatiszus bilirubinreagens ezt az enzimet, a bilirubin-oxidázt alkalmazza. A biztosított assayanyagban az összbilirubin-koncentráció a 405–465 nm-es tartományban bekövetkező abszorbanciacsökkenés mérésével határozható meg.

KLINIKAI SZIGIFIKANCIA

A szérum vagy plazma összbilirubin-koncentrációja a hemolitikus rendellenességek, epeúti obstrukció, hepatitisz és cirrózis diagnózisa szempontjából fontos.

ELŐKÉSZÍTÉS

A jelen utasítások az alább bemutatott manuális eljárásban alkalmazandó reagenskészítményre vonatkoznak. Előfordulhat, hogy az adott automatizált berendezésekkel kapcsolatos alkalmazási adatlapok eltérő eljárást írnak elő, amelyet követni kell.

A puffert azonnal felhasználható formában biztosítjuk. Az enzimreagens regenerálását desztillált víz körütekintően végzett hozzáadásával kell végezni. A hozzáadandó víz mennyisége az üveg címkéjén van feltüntetve. A teljes feloldódás érdekében óvatosan végezze az elegyítést. A FELOLDÁSHOZ NE ALKALMAZZON RÁZÓ MOZGÁST.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagens 2–8 °C-os hőmérsékleten történő tárolás esetén a címkén feltüntetett lejárat időig marad stabil. A regenerált enzimreagens 20–25 °C-os hőmérsékleten 8 órán át, 2–8 °C-os hőmérsékleten hét napig, -15 és -20 °C közötti hőmérsékleten pedig 30 napig marad stabil. Az enzimreagens kizárólag egyszer fagyasztható. A kiolvasztást ne végezze 30 °C feletti hőmérsékleten és óvatos keverés nélkül.

MINTAKEZELÉS

A tesztminták megfelelő módon levett szérum vagy plazma lehetnek. A plazmaminták esetében az EDTA az ajánlott véralvadásgátló. A beszámolók szerint a tiszta minták összbilirubin-koncentrációja szobahőmérsékleten néhány órán át, fagyasztva és fénytől védett helyen pedig 7 napig marad stabil.⁵

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

0,1–1,0 mg/dL

Ajánlott, hogy minden laboratórium maga állapítsa meg a várt értékek területének normál tartományát. A fent közölt értékek 105 donor alapján kerültek meghatározásra.

TELJESÍTMÉNY

Pontosság

20 másolat napon belüli pontossága (± 1 S.D.) 3,8%, 0,9%, 0,8%, illetve 0,9% volt a 0,78, 2,23, 3,87, illetve 7,80 mg/dL átlagérték esetében. A vizsgálati napok közötti pontosság (± 1 S.D.) egy húsznapos időszakban 4,3%, 0,9%, 1,4%, illetve 0,9% volt az 1,3, 5,7, 10,3, illetve 18,3 mg/dL átlagérték esetében.

Érzékenység

A fentebb leírt eljárás használatával az assay olyan érzékenységgű, hogy $\Delta A = 0,028$ körülbelül egyenértékű 1 mg/dL bilirubinnal.

Dinamikus tartomány

A fent ismertetett manuális eljárásban való használat esetén ez a reagens 35 mg/dL-es értékkel lineáris eredményeket ad. Az automatizált berendezésekre vonatkozó protokollok a mintákban és reagensmennyiségekben való különbségeket tehetnek szükségessé, ami hatással lehet a dinamikus tartományra. Lásd a megfelelő alkalmazási adatlapot.

Mérési pontosság

A Dri-STAT enzimatiszus bilirubinreagenssel normál és kóros szérum ($n = 50$) assay vizsgálatában kapott eredmények (r) = 0,9997-es korrelációt, 1,045-es meredekséget és 0,18 mg/dL-es metszetet mutattak egy széles körben használatos Jendrassik-módszerrel összehasonlítva.

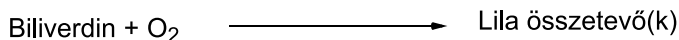
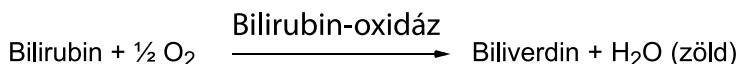
KORLÁTOZÁSOK

Hemoglobin (100 mg/dL) jelenlétében a bilirubinértékek 5%-kal csökkennek.

Young et al összeállított egy listát az összbilirubin-koncentrációt módosító vagy a bilirubin meghatározásával interferáló gyógyszerekről és egyéb anyagokról.⁶

ELJÁRÁS

A bilirubinassayben alkalmazott reakciósorozat a következő:



A 405–465 nm-es tartományon belüli teljes abszorpcióváltozás egyenesen arányos a mintában lévő bilirubin koncentrációjával.

REAGENSEK

Aktív összetevők	A reagensben lévő elkészítés utáni koncentráció
Bilirubin-oxidáns enzimreagens (mikrobiális)	25000 U/l

A biztosított puffer 100 mmol/L tris (hidroxi-metil) amino-metán, pH 8,2 ± 0,2.

A Dri-STAT enzimatikus bilirubinreagens mellett a teszt végrehajtásához bilirubinkalibrátorra és pontos minta-, standard- és reagenskezelésre és az abszorbancia pontos mérésére alkalmas készülékekre van szükség.

Ezek az utasítások manuális műszerezést alkalmazó tesztekben használandók. Egyes automatikus műszereken való reagenshasználatra vonatkozó utasítások kérésre rendelkezésre állnak.

Rendszerparaméterek

Hullámhossz	465 nm
Inkubációs hőmérséklet	37 °C
Mód	Abszorbancia
Abszorbanciatartomány	0 - 2 A
Küvetta úthosszúság	1,0 cm
Reakcióidő	5 perc
Mintatérfogat	0,05 mL
A puffer térfogata	1,00 mL
Az enzimreagens térfogata	0,08 mL

- Adagoljon 1,0 mL puffert egy tiszta küvettába. Helyezze a küvettát a spektrofotométerbe, és állítsa nullára az abszorbancia értékét.
- Adjon hozzá 0,05 mL kalibrátort vagy mintát, és alaposan keverje össze.
- Jegyezze fel a kalibrátor és a minták (A₀)kezdeti abszorbanciáját
- Adjon hozzá 0,08 mL enzimreagenst, alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on legalább 5 percig.
- Jegyezze fel a kalibrátor és a minták végső abszorbanciáját (A_f).
- Végezzen számítást a következő képlettel: $\Delta A = A_0 - A_f$ a kalibrátorra (ΔA_c) és a mintákra (ΔA_s) vonatkozóan.

SZÁMÍTÁS

A következő módon számítsa ki az összbilirubin-koncentrációkat:

$$\text{Összbilirubin-koncentráció (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C az alkalmazott kalibrátor mg/dL-ben kifejezett értéke.

MEGJEGYZÉSEK

- A sodródás elkerülése érdekében a végső abszorbanciaértékeket (A_f) az enzimreagens hozzáadása után legfeljebb egy órával szabad leolvasni.
- Amennyiben szokatlanul magas (> 35 mg/dL) bilirubin-koncentráció figyelhető meg, hígítsa a szérumot sóoldattal, és végezze el ismét a vizsgálatot. Az eredményeket szorozza meg a hígítási tényezővel. 3-szoros hígítás, azaz 0,1 mL szérum + 0,2 mL sóoldat keveréke ajánlott.
- Az assay az inkubációs idő tíz percre növelésével szobahőmérsékleten is elvégezhető.

MINŐSÉGELLENŐRZŐ ELJÁRÁSOK

Ajánlott, hogy minden vizsgálatsorozatban normális és kóros kontrollok vagy kalibrátorok is legyenek. A minőség-ellenőrzéshez kereskedelmi forgalomban kapható, meghatározott, referencialaboratórium által igazolt adatokkal rendelkező kontrollanyag használható. A kontrollanyag hozzárendelt értékét ezzel a módszerrel kell megerősíteni.

A reagenstől eltérő, a teszt teljesítményét esetlegesen befolyásoló tényezők többek között a berendezés megfelelő működése, az üvegedények és küveták tisztasága, valamint a minta- vagy reageszpipettázás pontossága.

Odczynnik enzymatyczny bilirubiny Dri-STAT®

REF 683802

Do *in vitro* użycia diagnostycznego

SPOSÓB UŻYCIA

Odczynnik enzymatyczny bilirubiny Dri-STAT jest przeznaczony do użycia w diagnostyce *in vitro* do oznaczania bilirubiny całkowitej w surowicy i osoczu.

STRESZCZENIE

Pomiar bilirubiny całkowitej jest wykonywany wieloma metodami, z których większość opiera się na reakcji bilirubiny z diazowanym kwasem sulfanilowym, której produktem jest niebieski barwnik.^{1,2} Ostatnio opisano enzym katalizujący utlenianie bilirubiny, której efektem jest obniżenie intensywności żółtego pasma absorpcji^{3,4}. Odczynnik enzymatyczny bilirubiny Dri-STAT stosuje enzym oksydazę bilirubinową. W oznaczeniu tym można określić poziom bilirubiny całkowitej przez pomiar obniżenia absorpcji w zakresie długości fali od 405 nm do 465 nm.

ZNACZENIE KLINICZNE

Pomiar całkowitej bilirubiny w surowicy lub osoczu ma znaczenie w diagnostyce choroby hemolitycznej, niedrożności przewodów żółciowych, zapalenia wątroby i marskości wątroby.

PREPARACJA

Instrukcje te dotyczą przygotowania odczynnika do procedury ręcznej opisanej poniżej. Arkusze danych dla określonych urządzeń automatycznych mogą zawierać inne procedury, których należy przestrzegać.

Bufor dostarczany jest w stanie gotowym do użycia. Odtworzenie odczynnika enzymatycznego należy wykonać przez ostrożne dodanie wody destylowanej. Wymagana ilość wody jest oznaczona na etykiecie fiołki. Wymieszać ostrożnie aż do uzyskania jednorodnego roztworu. **NIE WSTRZĄSAĆ PODCZAS MIESZANIA**

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Odczynnik jest stabilny do upływu daty ważności oznaczonej na etykiecie, jeśli jest przechowywany w temperaturze 2 °C do 8 °C. Odtworzony odczynnik enzymatyczny jest stabilny przez osiem godzin w temperaturze 20 °C do 25 °C, siedem dni w temperaturze 2 °C do 8 °C oraz trzydzieści dni w temperaturze -15 °C do -20 °C. Odczynnik enzymatyczny można zamrozić tylko raz. Nie wolno rozmrażać w temperaturze ponad 30 °C lub rozmrażać bez delikatnego mieszania.

OBSŁUGA PRÓBK

Próbkami może być surowica lub osocze, pobrane w odpowiedni sposób. Zalecany antykoagulantem dla próbek surowicy jest EDTA. Bilirubina całkowita w czystych próbkach utrzymuje się na stałym poziomie w temperaturze pokojowej przez kilka godzin i do siedmiu dni w lodówce, bez dostępu światła.⁵

EXPECTED VALUES (Oczekiwane wartości)

0,1 do 1,0 mg/dL

Zaleca się ustalenie zakresu prawidłowego przez każde laboratorium, w zależności od lokalizacji. Wyżej podane wartości uzyskano od 105 dawców.

DZIAŁANIE

Precyzja

Dokładność dzienna (± 1 S.D.) dla dwudziestu powtórzeń wyniosła 3,8%, 0,9%, 0,8% i 0,9% przy wartościach średnich odpowiednio 0,78, 2,23, 3,87 i 7,80 mg/dL. Dokładność dzień do dnia (± 1 S.D.) w okresie dwudziestu dni wynosiła 4,3%, 0,9%, 1,4% i 0,9% przy wartościach średnich odpowiednio 1,3, 5,7, 10,3 i 18,3 mg/dL.

Czułość

Przy użyciu powyższej procedury uzyskano taką czułość oznaczenia, że $\Delta A = 0,028$ odpowiada przeciętnie 1 mg/dL bilirubiny.

Zakres dynamiczny

Przy zastosowaniu wyżej opisanej ręcznej procedury odczynnik zapewnia wyniki odpowiadające liniowo 35 mg/dL. Protokoły automatycznych urządzeń mogą zgłaszać różnice w objętościach próbek i odczynników, które mogą mieć wpływ na zakres dynamiczny. Należy sprawdzić w odpowiednim arkuszu danych.

Dokładność

Wyniki uzyskane przy użyciu odczynnika enzymatycznego bilirubiny Dri-STAT w oznaczeniu prawidłowych i nieprawidłowych surowic ($n = 50$) wykazały korelację ($r = 0,9997$, nachylenie = 1,045, oraz wartość przechwycenia = 0,18 mg/dL w porównaniu z szeroko stosowaną metodą Jendrassik.

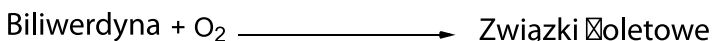
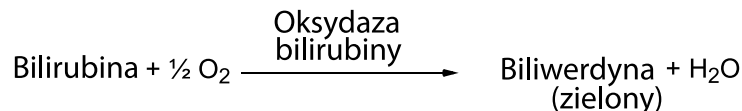
OGRANICZENIA

W obecności hemoglobiny (100 mg/dL), wartości bilirubiny są obniżone o 5%.

Lista leków i innych substancji, które zmieniają poziom bilirubiny całkowitej lub wykazują interferencję z jej oznaczeniem znajduje się w publikacji Young et al.⁶

PROCEDURA

Kolejność reakcji biorących udział w oznaczeniu jest następująca:



Całkowita zmiana absorpcji w zakresie długości fali od 405 nm do 465 nm jest proporcjonalna do stężenia bilirubiny w próbce.

ODCZYNNIKI

Składniki aktywne

Odczynnik enzymatyczny
- oksydaza bilirubinowa
(bakteryjna)

Stężenie w odczynniku podczas tworzenia

25000 U/l

Bufor zawiera 100 mmol/L tris (hydroksymetylo) aminometanu, pH $8,2 \pm 0,2$.

Poza odczynnikiem enzymatycznym bilirubiny Dri-STAT oznaczenie wymaga kalibratora bilirubiny oraz urządzenia umożliwiającego dokładne dostarczanie próbek, roztworów standardowych i odczynników oraz dokładne pomiary absorpcji.

Te instrukcje są przeznaczone do użycia w testach stosujących oprzyrządowanie ręczne. Specyficzne instrukcje dla użycia odczynnika na wybranych urządzeniach automatycznych są dostępne na życzenie.

Parametry systemu

Długość fali	465 nm
Temperatura inkubacji	37 °C
Tryb	Absorbancja
Zakres absorpcji	0 to 2 A
Długość kuwety	1,0 cm
Czas reakcji	5 minut
Objętość próbki	0,05 mL
Objętość bufora	1,00 mL
Objętość odczynnika enzymatycznego	0,08 mL

1. Dodać 1,0 mL bufora do czystej kuwety. Umieścić kuwetę w spektrofotometrze i wyzerować odczyt absorpcji.
2. Dodać 0,05 mL kalibratora lub próbki i dokładnie wymieszać.
3. Zapisać początkową absorpcję kalibratora i próbek (A_0).
4. Dodać 0,08 mL odczynnika enzymatycznego, wymieszać i inkubować w temperaturze 37 °C przez co najmniej pięć minut.
5. Zapisać ostateczne wartości absorpcji kalibratora i próbek (A_f).
6. Obliczyć $\Delta A = A_0 - A_f$ kalibratora (ΔA_c) i próbek (ΔA_s).

OBLICZENIA

Obliczyć poziomy bilirubiny całkowitej w następujący sposób:

$$\text{Bilirubina całkowita (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C jest wartością użytego kalibratora w mg/dL.

UWAGI

1. Aby zapobiec powstaniu odchylenia wyników należy odczytywać ostateczne wartości absorbancji (A_T) nie później w godzinę po dodaniu odczynnika enzymatycznego.
2. W przypadku stwierdzenia wyjątkowo wysokiego poziomu bilirubiny całkowitej ($> 35 \text{ mg/dL}$), należy rozcieńczyć surowicę solą fizjologiczną i powtórzyć oznaczenie. Wyniki należy wtedy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia. Zalecane jest 3-krotne rozcieńczenie, to jest 0,1 mL surowicy + 0,2 mL soli fizjologicznej.
3. To oznaczenie można wykonać w temperaturze pokojowej wydłużając czas inkubacji o dziesięć minut.

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

Zaleca się włączenie prawidłowych i nieprawidłowych kontroli lub kalibratorów do każdego zastawu oznaczeń. Kontrola jakości wymaga użycia dostępnego w handlu materiału kontrolnego z danymi potwierdzonymi przez laboratorium referencyjne. Przypisane wartości materiału kontrolnego muszą być potwierdzone tą metodą.

Czynniki inne niż odczynnik, które mogą mieć wpływ na wyniki tego oznaczenia to prawidłowe funkcjonowanie urządzenia, czystość szkła i kuwet oraz dokładność pipetowania próbek oraz odczynników.

Dri-STAT® Enzimatik Bilirubin Reaktifi

REF 683802

In Vitro Diagnostik Kullanım için

KULLANIM AMACI

Dri-STAT Enzimatik Bilirubin Reaktifi serum ve plazmadaki toplam bilirubinin *in vitro* diyagnostik belirlemelerinde kullanılmak amacıyla tasarlanmıştır.

ÖZET

Toplam bilirubinin ölçümü, büyük bölümü mavi bir pigment oluşturacak şekilde bilirubinin diazolanmış sülfanilik asit ile reaksiyonuna dayanan çok sayıda yöntem ile yapılabilmektedir.^{1,2} Kısa süre önce, bilirubinin oksidasyonunu katalize eden ve karakteristik sarı absorpsiyon bandında kayba neden olan bir enzim tarif edilmiştir^{3,4}. Dri-STAT Enzimatik Bilirubin Reaktifi bu enzimi, yani bilirubin oksidazı kullanmaktadır. Sağlanan test ortamında, toplam bilirubin 405 nm ile 465 nm aralığındaki absorbans düşüşü ölçülerek belirlenebilmektedir.

KLİNİK ANLAM

Toplam serum veya plazmada bilirubin ölçümü hemolitik bozukluklar, biliyer obstrüksiyon, hepatit ve siroz tanısında değerlidir.

HAZIRLIK

Bu talimatlar aşağıda sunulan manüel prosedürde kullanım için reaktifin hazırlanmasında geçerlidir. Belirli otomatik cihazlara ait uygulama veri formlarında, uygulanması gereken farklı bir prosedür belirtilebilir.

Tampon solüsyon kullanıma hazır olarak sağlanır. Enzim Reaktifinin hazırlanması distile su dikkatli ilave edilerek gerçekleştirilmelidir. İlave edilecek su miktarı flakon üzerinde belirtilmiştir. Tam solüsyonu elde etmek için hafifçe karıştırın. ÇÖZÜNDÜRMEK İÇİN ÇALKALAMAYIN.

SAKLAMA VE STABİLİTE

Reaktif 2 °C ile 8 °C'de saklandığında etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabil kalır. Hazırlanan Enzim Reaktifi 20 °C ile 25 °C'de sekiz saat, 2 °C ile 8 °C'de yedi gün veya -15 °C ile -20 °C'de otuz gün boyunca stabildir. Enzim Reaktifi yalnızca bir kez dondurulabilir. 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda eritmeyin veya hafif karıştırmadan erimeye bırakmayın.

ÖRNEĞİN TAŞINMASI

Test numuneleri, uygun şekilde alınmış serum ya da plazma olabilir. EDTA, plazma numuneleri için tavsiye edilen antikoagülandır. Berrak numunelerdeki toplam bilirubinin, oda sıcaklığında birkaç saat ve soğutucuda ve ışıktan korunmuş olarak yedi gün boyunca stabil kaldığı bildirilmiştir.⁵

BEKLENEN DEĞERLER

0,1 ile 1,0 mg/dL

Her laboratuvarın bulunduğu bölge için normal aralığı tespit etmesi önerilir. Yukarıda bahsedilen değerler 105 donörden alınmıştır.

PERFORMANS

Kesinlik

Yirmi kopyanın gün içi kesinliğinin ($\pm 1 \text{ S.S.}$), 0,78, 2,23, 3,87 ve 7,80 mg/dL ortalama değerleri için sırasıyla %3,8, %0,9, %0,8 ve %0,9 olduğu tespit edilmiştir. Yirmi günlük bir süre içinde günler arası kesinliğin ($\pm 1 \text{ S.S.}$) 1,3, 5,7, 10,3 ve 18,3 mg/dL ortalama değerleri için sırasıyla %4,3, %0,9, %1,4 ve %0,9 olduğu tespit edilmiştir.

Duyarlılık

Yukarıda açıklanan prosedür kullanıldığında, testin hassasiyeti $\Delta A = 0,028$ yaklaşık 1 mg/dL bilirubine eşdeğer olacak şekildedir.

Dinamik Aralık

Yukarıda açıklanan manüel prosedürde kullanıldığında, bu reaktif 35 mg/dL ile doğrusal olan sonuçlar sağlar. Otomatik cihazlara ait protokoller örneklerde ve reaktif hacimlerinde farklılıklar gerektirebilir; bu da dinamik aralığı etkileyebilir. Uygun uygulama veri formuna başvurun.

Doğruluk

Dri-STAT Enzimatik Bilirubin Reaktifi ile normal ve anormal serumlarda ($n = 50$) elde edilen sonuçlar, yaygın olarak kullanılan Jendrassik yöntemi ile karşılaştırıldığında korelasyonun ($r = 0,9997$, eğimin = 1,045 ve kesmenin = 0,18 mg/dL olduğunu göstermiştir.

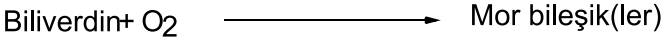
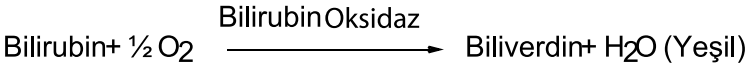
SINIRLAMALAR

Hemoglobin (100 mg/dL) ile birlikte, bilirubin değerleri %5 oranında düşer.

Toplam bilirubin seviyelerini değiştiren ya da belirlenmesine etki eden ilaç ve diğer maddelerin listesi Young ve ark. tarafından derlenmiştir.⁶

PROSEDÜR

Bilirubin testinde uygulanan reaksiyon sırası şu şekildedir:



405 nm ila 465 nm aralığındaki toplam absorpsiyon değişimi örnekteki bilirubin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

REAKTİFLER

Aktif Maddeler	Formüle göre Hazırlanmış Reaktif içindeki Konsantrasyon
Enzim Reaktif Bilirubin oksidaz (mikrobiyal)	25000 U/l

Sağlanan tampon 100 mmol/L tris (hidroksimetil) amino metan içerir, pH $8,2 \pm 0,2$.

Dri-STAT Enzimatik Bilirubin Reaktifine ek olarak, testin yapılması için bilirubin kalibratörü ve örnekler, standartlar ve reaktifin doğru şekilde iletimini yapabilen cihazlar ile absorbansın doğru olarak ölçülmesi gereklidir.

Bu talimat, manüel cihazların kullanıldığı testler içindir. Belirli otomatik cihazlarla reaktif kullanımı hakkındaki spesifik talimat istek üzerine temin edilebilir.

Sistem Parametreleri

Dalga boyu	465 nm
İnkübasyon sıcaklığı	37 °C
Mod	Absorbans
Absorbans Aralığı	0 – 2 A
Küvet yol uzunluğu	1,0 cm
Reaksiyon süresi	5 dakika
Numune hacmi	0,05 mL
Tampon hacmi	1,00 mL
Enzim reaktif hacmi	0,08 mL

1. Küveti temizlemek için 1,0 mL tampon ilave edin. Küveti spektrofotometreye yerleştirin ve absorbans değerini sıfıra getirin.
2. 0,05 mL kalibratör veya örnek ilave edip iyice karıştırın.
3. Kalibratör ve örneklerin ilk absorbans değerlerini kaydedin (A_0)
4. 0,08 mL Enzim Reaktifi ilave edin, iyice karıştırın ve en az beş dakika boyunca 37 °C'de inkübe edin.
5. Kalibratör ve örneklerin son absorbanslarını kaydedin (A_f).
6. Kalibratör (ΔA_c) ve örnekler (ΔA_s) için $\Delta A = A_0 - A_f$ hesaplayın.

HESAPLAMA

Toplam bilirubin seviyelerini řu řekilde hesaplayın:

$$\text{Toplam Bilirubin (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_c} \times C^*$$

* C kullanılan kalibratörün mg/dL cinsinden değeri.

NOTLAR

1. Kayma yaşanmaması için, son absorbanlar (A_f) Enzim Reaktifi ilavesinden en fazla bir saat sonra okunmalıdır.
2. Olağandışı yüksek toplam bilirubin seviyeleri gözlemlenecek olursa, (> 35 mg/dL), serumu salin ile seyreltin ve yeniden test edin. Sonuçları seyreltme faktörü ile çarpın. 3'lük bir seyreltmenin (yani 0,1 mL serum + 0,2 mL salin) önerilir.
3. Bu test, inkübasyon süresi on dakikaya uzatılarak oda sıcaklığında yapılabilir.

KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ

Her test setine normal ve anormal kontrollerin veya kalibratörlerin eklenmesi önerilir. Kalite kontrol için, piyasada bulunan, belirlenmiş değeri bir referans laboratuvar tarafından doğrulanmış olan kontrol materyali kullanılabilir. Kontrol materyalinin belirlenmiş değeri bu metodoloji ile doğrulanmalıdır.

Bu testin sonucunu etkileyebilecek, reaktif dışındaki faktörler arasında, cihazın uygun fonksiyon göstermesi, cam malzemeler ve küvetlerin temizliği ve örnek veya reaktif pipetleme doğruluğu yer alır.

REFERENCES

1. Malloy, H.T., and K. A. Evelyn, J. Biol. Chem. 119:481 (1937).
2. Winkelman, J., D.C. Cannon, and S. L. Jacobs, Clinical Chemistry: Principles and Technics (Henry, R. J., D. C. Cannon and J. W. Winkelman, Editors) p 1060 Harper & Row, Hagerstown, MD (1974).
3. Jendrassik, L. and P. Grof, *Biochem Z* 297:81 (1938).
4. Murao, S. and N. Tanaka, *Agric. Biol. Chem.* 45:2383 (1981)
5. Henry, R. J. O. J. Golub, S. Beckman, and M. Segalove, *Am. J. Clin. Pathol* 23:841 (1953)
6. Young, D. S., D. W. Thomas, R. B. Friedman, and L. G. Pestaner, *Clin. Chem* 18 NO. 10 (1972).



Beckman Coulter Ireland Inc.
Mervue Business Park
Mervue, Galway, Ireland
Tel: 353 91 774068

BECKMAN COULTER DO BRAZIL LTDA,
Estrada do Mapu 591
Taquara-Jacarepagu EP 22710-261-Rio de Janeiro-RJ Brasil
CNPJ 42.160.812/0001-44

製造販売元: ベックマン・コールター株式会社
東京都江東区有明三丁目5番7号
TOC有明ウエストタワー



Beckman Coulter, Inc., 250 S. Kraemer Blvd., Brea, California 92821
B09025

June 2011

Printed in U.S.A.