BILD2

cobas®

Bilirubin Direct Gen.2 (Jendrassik Grof)

Informazioni per ordini

REF	CONTENT		Analizzatori su cui il **cobas c** pack può essere impiegato
05168384 190*	Bilirubin Direct Gen.2 (500 test)	N. d'ident. 03 7479 0	Roche/Hitachi **cobas c** 701/702
05168384 214*	Bilirubin Direct Gen.2 (500 test)	N. d'ident. 03 7479 0	Roche/Hitachi **cobas c** 701/702
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 × 3 mL)	Codice 401	
12149435 122	Precinorm U plus (10 × 3 mL)	Codice 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 × 3 mL)	Codice 301	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 × 5 mL)	Codice 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 × 5 mL)	Codice 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 × 5 mL)	Codice 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 × 5 mL)	Codice 392	
10158046 122	Precibil (4 × 2 mL)	Codice 306	

* Alcune confezioni indicate non sono disponibili in tutti i paesi.

Italiano

Informazioni relative al sistema

BILD2: ACN 8734

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa della bilirubina diretta nel siero e nel plasma, impiegando sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario[1]

La bilirubina si forma nel sistema reticoloendoteliale durante la degradazione degli eritrociti vecchi. Il gruppo eme viene rimosso dall'emoglobina e dalle altre proteine che lo contengono, poi viene metabolizzato in bilirubina e trasportato al fegato come complesso con l'albumina di siero. Nel fegato, la bilirubina viene coniugata con acido glucuronico per la solubilizzazione ed il successivo trasporto attraverso il dotto biliare; poi viene eliminata attraverso l'apparato digerente. Le patologie o condizioni che, attraverso processi emolitici, producono bilirubina più rapidamente di quanto il fegato possa metabolizzarla, determinano un incremento nei livelli di bilirubina non coniugata (indiretta) in circolo. L'immaturità del fegato e varie altre patologie in cui il meccanismo di coniugazione della bilirubina viene danneggiato causano analoghi aumenti della bilirubina non coniugata in circolo. L'ostruzione del dotto biliare o danni alla struttura epatocellulare incrementano i livelli di bilirubina sia coniugata (diretta) sia non coniugata (indiretta) in circolo.

Principio del test

Metodo con diazoreagente.[2]

La bilirubina coniugata e la δ-bilirubina (bilirubina diretta) reagiscono direttamente con il sale di 3,5-diclorofenildiazonio nel tampone acido, formando azobilirubina di colore rosso.

Bilirubina + 3,5-DPD ⟶ azobilirubina

L'intensità di colore dell'azocolorante rosso formatosi è direttamente proporzionale alla concentrazione di bilirubina diretta (coniugata) e può essere misurata fotometricamente.

Nota: sotto l'influenza della luce blu, per es. durante la fototerapia nei neonati, la bilirubina non coniugata viene parzialmente trasformata in un isomero idrosolubile, chiamato fotobilirubina, un substrato per test per la bilirubina diretta. Questa frazione viene rilevata dal test BILD2 e può produrre risultati superiori alla norma in bambini sani.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 Acido fosforico: 85 mmol/L; HEDTA: 4.0 mmol/L; NaCl: 50 mmol/L; detergente; pH 1.9

R2 3,5-Diclorofenildiazonio: 1.5 mmol/L; pH 1.3

R1 si trova nella posizione B e R2 nella posizione C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.
Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

Pericolo

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

Prevenzione:

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

Reazione:

P301 + P330 + P331 IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.

P304 + P340 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare la persona all'aria aperta e mantenerla in posizione che favorisca la respirazione.
Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P305 + P351 + P338 + P310 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

Smaltimento rifiuti:

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento rifiuti approvato.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590

Utilizzo dei reattivi

Pronti all'uso.

Conservazione e stabilità

BILD2

Stabilità a 2-8 °C:	Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.
In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore:	6 settimane
A bordo del Reagent Manager:	24 ore

Prelievo e preparazione dei campioni

Per il prelievo e la preparazione dei campioni impiegare solo provette o contenitori di raccolta adatti.

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.
Siero: prelevare il siero impiegando provette standard.
Plasma: plasma con litio eparina, K_2-EDTA, K_3-EDTA.

Conservare i campioni al riparo dalla luce.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Per informazioni dettagliate relative alle possibili interferenze dai campioni, consultare la sezione "Limiti del metodo – interferenze".

Stabilità:[a),3,4]	2 giorni a 15-25 °C
	7 giorni a 2-8 °C
	6 mesi a (-15)-(-25) °C

a) se i campioni vengono conservati al riparo dalla luce.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- Vedere la sezione "Informazioni per ordini".
- Normale attrezzatura da laboratorio

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Applicazione per il siero ed il plasma

Definizione del test per gli analizzatori cobas c 701/702

Tipo di misura	2 Punti finale	
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 7-9	
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	800/546 nm	
Andamento della reazione	Crescente	
Unità di misura	µmol/L (mg/dL, mg/L)	
Volumi dei reagenti		Diluente (H_2O)
R1	120 µL	–
R2	24 µL	–

Volumi dei campioni	*Campione*	*Diluizione del campione*	
		Campione	Diluente (H_2O)
Normale	6.7 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	3.4 µL	–	–
Concentrato	6.7 µL	–	–

Calibrazione

Calibratore	S1: H_2O
	S2: Calibrator f.a.s.
Tipo di calibrazione	Regressione lineare
Frequenza di calibr.	Calibrazione a 2 punti – a cambio di lotto del reattivo – se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro le prestazioni del test manuale impiegando il metodo Jendrassik-Grof.[5]

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati nella sezione "Informazioni per ordini".

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

I sistemi Roche/Hitachi **cobas c** effettuano il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ciascun campione.

Fattori di conversione:	µmol/L × 0.0585 = mg/dL
	mg/dL × 10 = mg/L
	mg/dL × 17.1 = µmol/L

Limiti del metodo – interferenze

Criterio di valutazione: recupero entro ±10 % dei valori iniziali ad una concentrazione di bilirubina diretta di 34 µmol/L (2 mg/dL).

Emolisi:[6] nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 25 (concentrazione di emoglobina: ca. 15.5 µmol/L oppure 25 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):[6] nessuna interferenza significativa fino ad un indice L di 750. Non esiste una buona correlazione tra l'indice L (corrisponde alla torbidità) e la concentrazione di trigliceridi.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.[7,8]

Eccezione: il fenilbutazone causa valori artificialmente bassi di bilirubina.

I campioni contenenti verde di indocianina non devono essere misurati.

In casi molto rari, la gammapatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.[9]

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

In determinati casi, i campioni possono produrre valori leggermente più alti per la bilirubina diretta che non per la bilirubina totale. Ciò si osserva nei campioni prelevati da pazienti nei quali quasi tutta la bilirubina reattiva è bilirubina diretta. In tali casi, il risultato della bilirubina totale deve essere riportato sia per i valori di bilirubina diretta che per quelli di bilirubina totale.

AZIONI RICHIESTE

Programmazione extra lavaggi: è assolutamente necessario effettuare

specifiche fasi di lavaggio se certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**. Tutte le programmazioni di extra lavaggi richieste per evitare possibili carry-over sono disponibili tramite **cobas** link; in determinati casi è comunque necessario effettuare inserimenti manuali. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alla metodica NaOHD - SMS - SmpCln1+2 - SCCS; per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso.

È necessario implementare la procedura di extralavaggio (qualora richiesta) prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

1.5-291 µmol/L (0.09-17 mg/dL)

Determinare i campioni con concentrazioni più alte con la funzione rerun. La diluizione dei campioni con la funzione rerun avviene nel rapporto 1:2. I risultati ottenuti con i campioni diluiti con la funzione rerun vengono automaticamente moltiplicati per il fattore 2.

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 1.0 µmol/L (0.06 mg/dL)

Limite di sensibilità = 1.5 µmol/L (0.09 mg/dL)

Limite di quantificaz. = 3.0 µmol/L (0.18 mg/dL)

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95º percentile ottenuto in n ≥ 60 misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse.

Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Il limite di quantificazione rappresenta la concentrazione minima dell'analita che può essere misurata in modo riproducibile con un errore totale del 30 %. È stato determinato utilizzando campioni con basse concentrazioni di bilirubina.

Valori di riferimento[1]

Bilirubina diretta: ≤5 µmol/L (≤0.30 mg/dL)

Un limite superiore di 10 µmol/L di bilirubina diretta per neonati è stato riportato nella letteratura nonostante non fosse stato confermato con dati interni.[10]

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP5 del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): ripetibilità (n = 21) e precisione intermedia (4 aliquote per serie, 1 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Ripetibilità	*Media*	*DS*	*CV*
	µmol/L (mg/dL)	*µmol/L (mg/dL)*	*%*
Precinorm U	15.7 (0.92)	0.1 (0.01)	0.9
Precipath U	42.3 (2.47)	0.1 (0.01)	0.3
Siero umano 1	4.9 (0.29)	0.1 (0.01)	1.9
Siero umano 2	188 (11.0)	0.4 (0.02)	0.2
Siero umano 3	285 (16.7)	0.8 (0.04)	0.3

Precisione intermedia	*Media*	*DS*	*CV*
	µmol/L (mg/dL)	*µmol/L (mg/dL)*	*%*
Precinorm U	14.9 (0.872)	0.4 (0.023)	2.6
Precipath U	38.8 (2.27)	0.5 (0.03)	1.4
Siero umano 1	1.8 (0.105)	0.2 (0.018)	10
Siero umano 2	179 (10.5)	2.6 (0.15)	1.5
Siero umano 3	260 (15.2)	4.0 (0.23)	1.5

Confronto tra metodi

I valori di bilirubina ottenuti per campioni di siero e di plasma umani con il reagente BILD2 di Roche (ACN 734) su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c** 501 (x) sono stati confrontati con quelli determinati con il reagente corrispondente su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c** 701 (y).

Dimensione (n) del campione = 67

Passing/Bablok[11]	Regressione lineare
y = 1.018x + 0.56 µmol/L	y = 1.018x + 0.55 µmol/L
τ = 0.970	r = 1.000

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 3.7 e 257 µmol/L (tra 0.216 e 15.03 mg/dL).

Letteratura

1 McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. Saunders Elsevier, 2007:1405.

2 Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937;119:481-490.

3 Quality of Diagnostic Samples, Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 3rd completely revised ed. 2010.

4 WHO Publication: Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:Jan 2002.

5 Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung des Bilirubins. Biochem Z 1938;297:81-89.

6 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.

7 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.

8 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.

9 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.

10 Soldin JS, Brugnara C, Wong EC. Pediatric Reference Intervals. AACC Press, 5th ed., 2005.

11 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere https://usdiagnostics.roche.com):

CONTENT	Contenuto della confezione
→	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
GTIN	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

BILD2

Bilirubin Direct Gen.2 (Jendrassik Grof)

© 2018, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com