

A szérumban direkt bilirubin koncentrációjának meghatározására szolgáló reagenskészlet, DPD módszer.

Meghatározás elve

A direkt bilirubin a 3,5-diklorfenildiazónium-tetrafloroboráttal (DPD) savas közegben összekapcsolódik azobilirubint képezve. A festék 546 nm-en mért abszorbanciája arányos a minta direkt bilirubin koncentrációjával

Referencia értéktartomány

Szérumban: direkt bilirubin <5 µmol/l (<0,3 mg/dl)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normál tartományát meghatározni.

Reagens

Direkt Bilirubin

1. Reagens (R1)
 Sósav 170 mmol/l
 Kénsav

2. Reagens (R2)
 Sósav 170 mmol/l
 DPD 3 mmol/l

Biztonsági információk

Reagens 1:

Figyelem. Kénsavat tartalmaz. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Minta

Hemolizismentes szérumban, vagy EDTA, citrát plazma. Heparin plazma használata nem ajánlott.

A minta fénytől védve tartandó!

Stabilitás

felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig
 felbontás után: 10 nap
 kalibrációs gyakoriság: 3 nap
 onboard stabilitás: 3-10 nap

A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A vizsgálat kivitelezése

A reagens felhasználásra kész. Fénytől védve tárolandó.

Mérési eljárás:

Hullámhossz: 550 nm (540-560 nm)
 Hőmérséklet: 37 °C
 Fényút: 1 cm
 Mérési mód: végpontos
 Mérés: reagens vak

Bemérés

	Minta	Kalibrátor
Reagens R1	1000 µl	1000 µl
Minta	100 µl	-
Kalibrátor	-	100 µl

Keverjük össze és 3 perc inkubálás után olvassuk le az abszorbanciát (A1).

	Minta	Kalibrátor
Reagens R2	250 µl	250 µl

Keverjük össze és 5 perc után olvassuk le az abszorbanciát (A2). ΔA=A2-A1

Kalibráció: (37°C, DPD)

S1: Desztillált víz

S2: Diagnosticum DunaCal vagy

Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system)

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,

- ahogy ezt a labor belső minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{\Delta A_{Minta}}{\Delta A_{Kalibrátor}} \times C_{Kalibrátor} = C_{Minta}$$

A = Abszorbancia, C = Kalibráció

Belső minőségellenőrzés

A belső minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI

A méréseket Cobas Mira Plus automatán végeztük.

Linearitás

A módszer 150 µmol/l-ig (8,77 mg/dl) lineáris.

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. Kézi mérés körülményei között 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 1,5 µmol/l (0,08 mg/dl) bilirubin koncentrációval.

Precizitás

	Reprodukálhatóság		
	átlagos koncentráció (µmol/l)	SD	CV%
minta 1	9,9	0,51	5,12
minta 2	43,24	0,73	1,68

	Ismételhetőség		
	átlagos koncentráció (µmol/l)	SD	CV%
minta 1	9,9	0,55	5,6
minta 2	43,82	1,32	3,02

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó totál bilirubin reagensével. A korrelációs regressziós regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: r=0,9957

lineáris regresszió: y=1,064x-0,463 (x=más gyártó reagens, y=saját reagens)

Szelektivitás










Az szorbinsav 0,6 mg/dl, hemoglobin 20 mg/dl koncentrációig nem zavarja a mérést

Megjegyzés

Ne használja a reagenset a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenset csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai használatra alkalmas

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárati idő (év/hónap)		

Irodalom

Tietz N.W., *Clinical guide to laboratory tests*, Saunders Co.

Thomas L., *Clinical Laboratory Diagnostics*, TH-Books (1998)

Szabó A.: *Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010)* (ISBN 978-963-9879-75-1)

Verzió: 23-DL-2015-07

Felülvizsgálat dátuma: 2016-03

Reagent kit for the quantitative determination of direct bilirubin in serum. DPD method.

Principle

The stabilized diazonium salt 3,5-dichlorophenyl-diazonium-tetrafluoroborate (DPD) couples directly with direct bilirubin in an acid medium to yield the corresponding azobilirubin. The absorbance of this dye at 546 nm is directly proportional to the direct bilirubin concentration in the sample.

Reference value

Serum: direct bilirubin <5 µmol/l (<0,3 mg/dl)

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

Direct Bilirubin

1. Reagent (R1)		
Hydrochloric acid	170 mmol/l	
Sulphuric acid		
2. Reagent (R2)		
Hydrochloric acid	170 mmol/l	
DPD	3 mmol/l	

Safety instructions:

Reagent 1:

Warning. Contains Sulfuric acid. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do – continue rinsing.

Sample

Serum free of haemolysis or EDTA, citrate plasma. Heparin plasma not recommended. **Bilirubin in serum is light sensitive and it is recommended that serum be stored in the dark.**

Stability

without opening: till the expiry date indicated on the label
 after opening: 10 days
 calibration frequency: 3 days
 onboard stability: 3-10 days
 Stability data are valid only when using new system bottle!

Procedure

All reagents are ready for use.

Avoid direct exposure to light!

Assay Conditions

Wavelength: 550 nm (540-560 nm)
 Temperature: 37 °C
 Cuvette: 1 cm light path
 Measure: end point
 Read against: reagent blank

Pipette into cuvette

	Sample	Calibrator
Reagent 1	1000 µl	1000 µl
Sample	100 µl	-
Calibrator	-	100 µl

Mix and incubate for 3 minutes, read the absorbance (A1).

	Sample	Calibrator
Reagent 2	250 µl	250 µl

Mix and incubate for 5 minutes, read absorbance (A2). ΔA=A2-A1

Calibration: (37°C, DPD)

S1: Distilled water
 S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Dcal or Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system)
 Calibration is recommended:
 - after reagent lot change,
 - as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{\Delta A_{Sample}}{\Delta A_{Calibrator}} \times C_{Calibrator} = C_{Sample}$$

A = Absorbance, C = Concentration

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish

corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

PERFORMANCES DATA

The following data were obtained using Cobas Mira Plus analyzer

Linearity

The test is linear up to 150 µmol/l (8,77 mg/dl)

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual condition the change of 0,001 absorbance is equivalent to 1,5 µmol/l (0,08 mg/dl) bilirubin concentration

Precision

	Reproducibility		
	average concentration (µmol/l)	SD	CV%
sample 1	9,9	0,51	5,12
sample 2	43,24	0,73	1,68

	Repeatability		
	average concentration (µmol/l)	SD	CV%
sample 1	9,9	0,55	5,6
sample 2	43,82	1,32	3,02

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial bilirubin total test. The results are detailed below:
 Correlation coefficient: r=0,9957
 Linear regression: y=1,064x-0,463 (x=other commercial reagent, y=own reagent)

Specificity










Ascorbic acid 0,6 mg/dl, hemoglobin 20 mg/dl don't interfere with the assay up to the given levels.

Note

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solution and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only!

The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Tietz N.W., *Clinical guide to laboratory tests*, Saunders Co.
 Thomas L., *Clinical Laboratory Diagnostics*, TH-Books (1998)
 Szabó A.: *Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010)* (ISBN 978-963-9879-75-1)

Version: 23-DL-2015-07
 Date of revision: 2016-03