

REF	CONTENT		Analizzatori su cui il cobas c pack può essere impiegato
05795397 190	Bilirubin Total Gen.3 (250 test)	N. d'ident. 07 7483 9	cobas c 311, cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Codice 401	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Codice 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Codice 301	
10158046 122	Precibil (4 x 2 mL)	Codice 306	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Codice 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Codice 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Codice 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Codice 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	N. d'ident. 07 6869 3	

Italiano**Informazioni relative al sistema**

Per gli analizzatori **cobas c 311/501**:

BILT3: ACN 712

SBIL3: ACN 711 (STAT, tempo di reazione: 4)

Per l'analizzatore **cobas c 502**:

BILT3: ACN 8712

SBIL3: ACN 8711 (STAT, tempo di reazione: 4)

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa della bilirubina totale nel siero e nel plasma di adulti e neonati sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario¹

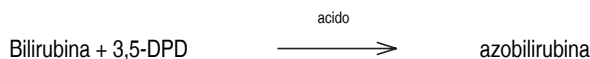
La bilirubina si forma nel sistema reticoloendoteliale durante la degradazione degli eritrociti vecchi. Il gruppo eme viene rimosso dall'emoglobina e dalle altre proteine che lo contengono, poi viene metabolizzato in bilirubina e trasportato al fegato come complesso con l'albumina di siero. Nel fegato, 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'imaturità 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 test²

Metodo colorimetrico con diazoreagente.

In presenza di un agente solubilizzante appropriato, la bilirubina totale si lega a 3,5-diclorofenildiazonio in condizioni di forte acidità.



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

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 Fosfato: 50 mmol/L; detergenti; stabilizzatori, pH 1.0

R2 Sale di 3,5-diclorofenildiazonio: ≥ 1.35 mmol/L

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**

H290

Può essere corrosivo per i metalli.

H314

Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H360FD

Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.

Prevenzione:

P201

Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P280

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

Reazione:

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.

P308 + P313

IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

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

BILT3

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

Diluent NaCl 9 %

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:

12 settimane

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.

Plasma: plasma con litio eparina, K₂-EDTA, K₃-EDTA.

(L'impiego di plasma con EDTA con ematocrito elevato può provocare valori leggermente più bassi.)

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}

1 giorno 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 l'analizzatore cobas c 311**

Tipo di misura	2 Punti finale
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 6-17 (STAT: 4 / 6-17)
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	600/546 nm

Andamento della reazione

Crescente

Unità di misura

μmol/L (mg/dL, mg/L)

Volumi dei reagenti

Diluyente (H₂O)

R1

120 μL

–

R2

24 μL

–

*Volumi dei campioni**Campione**Diluizione del campione**Campione Diluyente (NaCl)*

Normale

2 μL

–

–

Ridotto (Diluito)

8 μL

15 μL

105 μL

Concentrato

2 μL

–

–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 501

Tipo di misura	2 Punti finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 10-25 (STAT: 4 / 10-25)		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	600/546 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	μmol/L (mg/dL, mg/L)		
Volumi dei reagenti	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 μL	–	–
R2	24 μL	–	–
<i>Volumi dei campioni</i>	<i>Campione</i>	<i>Diluizione del campione</i>	<i>Diluente</i>
		<i>Campione</i>	<i>Diluente</i>
Normale	2 μL	–	–
Ridotto (Diluito)	8 μL	15 μL	105 μL
Concentrato	2 μL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 502

Tipo di misura	2 Punti finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 10-25 (STAT: 4 / 10-25)		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	600/546 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	μmol/L (mg/dL, mg/L)		
Volumi dei reagenti	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 μL	–	
R2	24 μL	–	
<i>Volumi dei campioni</i>	<i>Campione</i>	<i>Diluizione del campione</i>	
		<i>Campione</i>	<i>Diluyente (NaCl)</i>
Normale	2 μL	–	–
Ridotto (Diluito)	8 μL	15 μL	105 μL
Concentrato	4 μL	–	–

Calibrazione

Calibratori	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s.
Tipo di calibrazione	Lineare
Frequenza di calibrazione	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: il metodo è stato standardizzato contro il metodo di Doumas.⁴

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 **cobas c** effettuano il calcolo automatico della concentrazione dell'analisi di ciascun campione.

Fattori di conversione:

$$\mu\text{mol/L} \times 0.0585 = \text{mg/dL}$$

$$\text{mg/dL} \times 10 = \text{mg/L}$$

$$\text{mg/dL} \times 17.1 = \mu\text{mol/L}$$

Limiti del metodo – interferenze

Criterio di valutazione: recupero entro $\pm 3.4 \mu\text{mol/L}$ (0.199 mg/dL) dei valori iniziali per campioni $\leq 34 \mu\text{mol/L}$ (1.99 mg/dL) e entro $\pm 10 \%$ per campioni $> 34 \mu\text{mol/L}$.

Emolisi:⁵ nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 800 (concentrazione di emoglobina: ca. 497 $\mu\text{mol/L}$ oppure 800 mg/dL).

Immunoglobuline: nessuna interferenza significativa da immunoglobuline fino ad una concentrazione di 28 g/L (187 $\mu\text{mol/L}$) (simulata dall'immunoglobulina G umana).

Criterio di valutazione: recupero entro $\pm 1.7 \mu\text{mol/L}$ (0.099 mg/dL) dei valori iniziali per campioni $\leq 17 \mu\text{mol/L}$ (0.995 mg/dL) e entro $\pm 10 \%$ per campioni $> 17 \mu\text{mol/L}$.

Emolisi nei neonati:⁵ nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 1000 (concentrazione di emoglobina: ca. 621 $\mu\text{mol/L}$ oppure 1000 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):⁵ nessuna interferenza significativa fino ad un indice L di 1000. 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.^{6,7}

Indacano: nessuna interferenza significativa da indacano fino ad una concentrazione di 0.12 mmol/L (3 mg/dL).

Cyanokit (l'idrossocobalamina) può provocare risultati falsamente bassi.

I campioni contenenti verde di indocianina non devono essere misurati.

I risultati ottenuti con i campioni prelevati da certi pazienti con mieloma multiplo possono provocare una deviazione positiva nel recupero. Non tutti i pazienti con mieloma multiplo presentano tale deviazione, e la gravità della deviazione può variare da paziente a paziente.

In casi molto rari, la gammopatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.⁸

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 **cobas c**. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alle metodiche NaOHD - SMS - SmpCln1+2 - SCCS. Per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso. Analizzatore **cobas c 502**: 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.

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

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

2.5-650 $\mu\text{mol/L}$ (0.146-38.0 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 = 1.7 $\mu\text{mol/L}$ (0.099 mg/dL)

Limite di sensibilità = 2.5 $\mu\text{mol/L}$ (0.146 mg/dL)

Limite di quantificazione = 2.5 $\mu\text{mol/L}$ (0.146 mg/dL)

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in $n \geq 60$ 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

Adulti⁹ fino a 21 $\mu\text{mol/L}$ (fino a 1.2 mg/dL)

Bambini all'età di fino a 17 $\mu\text{mol/L}$ (fino a 1.0 mg/dL)

≥ 1 mese

Studio relativo all'intervallo di riferimento con 500 campioni di siero umano ben caratterizzati¹⁰

Maschi fino a 24 $\mu\text{mol/L}$ (fino a 1.4 mg/dL)

Femmine fino a 15 $\mu\text{mol/L}$ (fino a 0.9 mg/dL)

Alto rischio di sviluppare iperbilirubinemia clinicamente significativa

Neonati: a termine e quasi a termine¹¹

Età dei neonati:

24 ore $\geq 137 \mu\text{mol/L}^{(b)}$ ($\geq 8.0 \text{ mg/dL}^{(b)}$)

48 ore $\geq 222 \mu\text{mol/L}^{(b)}$ ($\geq 13.0 \text{ mg/dL}^{(b)}$)

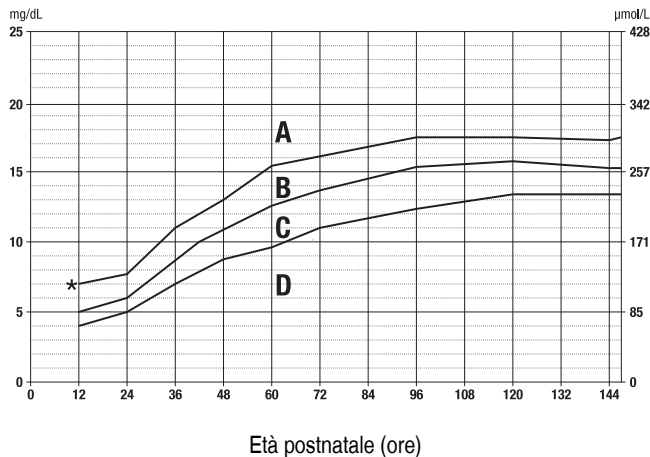
84 ore $\geq 290 \mu\text{mol/L}^{(b)}$ ($\geq 17.0 \text{ mg/dL}^{(b)}$)

^(b) 95° percentile

Livelli $> 95^\circ$ percentile: tali livelli di iperbilirubinemia sono stati considerati significativi, e generalmente si ritiene che richiedano una supervisione intensiva, possibilmente un'ulteriore valutazione e talvolta interventi.

Nomogramma indicante il rischio in 2840 neonati sani¹¹

Bilirubina sierica



* 95° percentile

A Zona ad alto rischio **C** Zona a rischio intermedio-basso
B Zona a rischio intermedio-alto **D** Zona a basso rischio

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 ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP5 del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Ripetibilità	Media	DS	CV
	μmol/L (mg/dL)	μmol/L (mg/dL)	%
Livello di controllo 1	15.4 (0.901)	0.3 (0.018)	2.1
Livello di controllo 2	52.8 (3.09)	0.3 (0.02)	0.6
Siero umano A	8.69 (0.508)	0.25 (0.015)	2.9
Siero umano B	302 (17.7)	2 (0.1)	0.6
Siero umano C	544 (31.8)	2 (0.1)	0.4
Precisione intermedia	Media	DS	CV
	μmol/L (mg/dL)	μmol/L (mg/dL)	%
Livello di controllo 1	15.4 (0.901)	0.3 (0.018)	2.1
Livello di controllo 2	52.8 (3.09)	0.4 (0.02)	0.8
Siero umano A	8.69 (0.508)	0.29 (0.017)	3.3
Siero umano B	302 (17.7)	2 (0.1)	0.8
Siero umano C	544 (31.8)	3 (0.2)	0.6

Confronto tra metodi

I valori di bilirubina totale ottenuti per campioni di siero e di plasma umani su un analizzatore **cobas c 501** con il reagente Bilirubin Total Gen.3 di Roche (y) sono stati confrontati con quelli determinati su un analizzatore COBAS INTEGRA 800 con il reagente corrispondente (x).

Dimensione (n) del campione = 64

Passing/Bablok¹² $y = 0.995x + 0.734 \mu\text{mol/L}$ $r = 0.990$

Regressione lineare

 $y = 0.993x + 1.20 \mu\text{mol/L}$ $r = 1.00$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 3.6 e 618 μmol/L (tra 0.211 e 36.2 mg/dL).

I valori di bilirubina totale ottenuti per campioni di siero e di plasma umani su un analizzatore **cobas c 501** con il reagente Bilirubin Total Gen.3 di Roche (y) sono stati confrontati con quelli determinati sullo stesso analizzatore con il reagente Total Bilirubin Special di Roche (x).

Dimensione (n) del campione = 152

Passing/Bablok¹² $y = 0.962x + 1.55 \mu\text{mol/L}$ $r = 0.981$

Regressione lineare

 $y = 0.936x + 3.01 \mu\text{mol/L}$ $r = 1.00$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 2.4 e 561 μmol/L (tra 0.140 e 32.8 mg/dL).

Letteratura

- 1 Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987;729-761.
- 2 Wahlefeld AW, Herz G, Bernt E. Modification of the Malloy-Evelyn method for a simple, reliable determination of total bilirubin in serum. Scand J Clin Lab Invest 1972;29 Supplement 126:Abstract 11.12.
- 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 Dumas BT, Kwok-Cheung PP, Perry BW, et al. Candidate Reference Method for Determination of Total Bilirubin in Serum: Development and Validation. Clin Chem 1985;31:1779-1789.
- 5 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 6 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 7 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.
- 8 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- 9 Thomas L, ed. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die Medizinische Diagnostik, 7th ed.: TH-Books Verlagsgesellschaft 2007:259-273.
- 10 Löhr B, El-Samallouti V, Junge W, et al. Reference Range Study for Various Parameters on Roche Clinical Chemistry Analyzers. Clin Lab 2009;55:465-471.
- 11 Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics 2004;114:297-316.
- 12 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 dialog. 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.

© 2019, Roche Diagnostics

0105795397190c501V10.0

BILT3

Bilirubin Total Gen.3



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



cobas[®]