TOTAL BİLİRUBİN

Total bilirubin konstantrasyonunun tayini için diagnostik reaktif.
Sıvı. Çift reaktif *(Oran: R1/R2: 4/1)*. +2/+8°C'de saklayınız. In Vitro Diagnostik kullanım içindir. **Dondurmayınız.**

Ref No	Ambalaj
MH-042 VH-042	75 mL 75 mL

Kullanma talimatı içerisinde yapılan değişiklikler gri ile işaretlenmiştir.

KULLANIM AMACI

Bu test insan serum ve plazmasındaki total bilirubinin kantitatif tayini için uygulanmaktadır.

GENEL BİLGİ

Bilirubin, 1849'da Virchow tarafından keşfedildi, bu sarı pigmente "hematidin" adını verdi. Bilirubin terimi ise 1864'te Stadeler tarafından icat edildi ve 1874'te Tarchanoff safra pigmentlerinin Hb ile doğrudan ilişkisini gösterdi. Bilirubin, esas olarak kırmızı kan hücresi (RBC) döngüsünün bir ürünü olan hemden türetilen turuncu-sarı pigmenttir.[1] Bilirubin molekülünün önemli kimyasal özellikleri suda çözünmemesi ve çeşitli polar olmayan çözücülerde çözünürlüğüdür. Doğal kaynaklardan elde edilen bilirubin neredeyse tamamen (%99) IXα izomerinden oluşur. β- ve δ-meten köprülerinin bölünmesinden kaynaklanan bilirubinler IXβ ve IXδ, safradan izole edilen ve bilirubinin %0,5'den az bir kısmını oluşturur. Üretilen toplam bilirubinin yaklaşık %85'i, karaciğer, dalak ve kemik iliğindeki retiküloendotelyal hücrelerde tahrip edilen yaşlanmış eritrositlerden salınan Hb'nin hem kısmından türetilir. Geriye kalan %15'lik kısım, kemik iliğinde yıkılan RBC öncüllerinden (buna etkisiz eritropoez denir) ve miyoglobin, sitokromlar ve peroksidazlar gibi diğer hem içeren proteinlerin katabolizmasından üretilir.[1]

Hem'in parçalanmasındaki ilk adım, retiküloendotelyal hücrelerin mikrozomal hem oksijenaz sistemi tarafından katalize edilmesidir. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat ($NADPH+H^+$) ve O_2 varlığında enzim, porfirin halkasının açılması (siklik hemin doğrusal biliverdine dönüştürülmesi), karbon monoksit (CO) üretimi ve Fe^{+2} salınımıyla sonuçlanan üç ardışık oksijenasyonu katalize eder. Sonraki aşamada yeşil bir pigment olan biliverdin, biliverdin redüktaz tarafından katalizlenen, NADPH gerektiren bir reaksiyon ile indirgenerek kırmızı-turuncu bilirubini oluşturur.[2,3]

Oluşan bilirubin (konjuge olmayan=indirekt) plazmada çok az çözünür ve bu nedenle albümine kovalent olmayan bir şekilde bağlanarak karaciğere taşınır. Karaciğerde bilirubin, taşıyıcı albümin molekülünden ayrışır, kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla hepatosit içine girer ve hücre içi proteinlere, özellikle de ligandin proteinine bağlanır. Burada bilirubine iki molekül glukuronik asitin eklenmesiyle bilirubinin çözünürlüğü artırılır.[3] Reaksiyonu katalizleyen "bilirubin üridin difosfat (UDP)-glukuroniltransferaz" enzimidir. Reaksiyon sonucunda bilirubin diglukoronit (konjuge=direkt bilirubin) oluşur. Bilirubin diglukuronid, muhtemelen bir taşıyıcı yoluyla sitozole geri döner ve ligandine bağlanır ve burada safraya salgılanmak üzere kanaliküler kutba veya plazmaya geri salgılanmak üzere sinüzoidal kutba difüze olur.[1] Bilirubin diglukuronid bağırsaktaki bakteriler tarafından hidrolize edilir ve indirgenerek renksiz bir bileşik olan ürobilinojen elde edilir. Ürobilinojenin çoğu bağırsak bakterileri tarafından dışkının karakteristik kahve rengine sahip olmasını sağlayan sterkobiline oksitlenir. Bununla birlikte, ürobilinojenin bir kısmı bağırsaktan yeniden emilir ve portal kana girer. Bu ürobilinojenin bir kısmı, karaciğer tarafından alındığı ve daha sonra safraya yeniden salgılandığı enterohepatik ürobilinojen döngüsüne katılır. Ürobilinojenin geri kalanı kan yoluyla böbreğe taşınır, burada sarı ürobiline dönüştürülür ve idrara karakteristik rengini verecek şekilde atılır.[3]

Bilirubin güçlü bir antioksidan olduğundan hafif veya orta derecede artan serum bilirubini faydalı etkilere sahiptir.[4] Bilirubinin aterogenez ve kanserojenez üzerine koruyucu etkileri hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda gösterilmiştir.[5,6] Bununla birlikte, yüksek konjuge olmayan hiperbilirubinemi konsantrasyonları toksiktir ve DNA sentezinin inhibisyonu ve doğrudan nörotoksisite nedeniyle apoptoz ve nekroz yoluyla nöronların kitlesel tahribatına neden olan bilirubin ensefalopatisine (kernikterus) neden olur.[7]

Bilirubinin plazmada ve dokularda birikmesi, ikterus veya sarılık olarak bilinen dokularda karakteristik sarı renk değişikliğine neden olur.[1] Sarılık nedenleri hemolitik (=pre-hepatik), hepatosellüler (=hepatik) ve tıkanma (=post-hepatik) olmak üzere üç ana çeşittir.[3,8] Karaciğer günde 3000 mg'dan fazla bilirubini konjuge etme ve ekskrete etme kapasitesine sahiptir, oysa normal bilirubin üretimi günde yalnızca 300 mg'dır. Orak hücreli anemi, pirüvat kinaz ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz eksikliğine bağlı yoğun hemoliz görülen hastalıklarda karaciğerin konjugasyon kapasitesi aşılırsa indirekt bilirubin konsantrasyonu yükselir.[3] Hemolitik aneminin doğuştan ve sonradan kazanılmış olmak üzere başlıca iki nedeni vardır.[9] Artan hemolizin ana nedeni, kırmızı kan hücrelerinin kusurlu plazma zarıdır. Bu hassas hücre zarı dolaşımdaki akış stresine dayanamaz ve dolayısıyla hemolizle sonuçlanan rüptürler meydana gelir ve bu da serum bilirubin seviyesinin artmasına neden olur.[10,11] Hemolitik sarılık hastalarında anemi, skleranın sararması,

koyu sarı-kahverengi renkli idrar, sarımsı cilt ve yüksek indirekt bilirubin seviyeleri görülür.[12]

Hepatik sarılıkta bilirubinin karaciğer tarafından alınması, konjugasyonu ve atılmasında kusur olabilir.[13-16] Hemolitik sarılığa benzer şekilde hepatik sarılığında doğuştan ve sonradan kazanılmış olmak üzere iki ana nedeni bulunur.[16,17] Hepatik sarılığının klinik belirtileri karın ağrısı, ateş, kusma ve mide bulantısının yanı sıra iştahsızlık, gastrointestinal kanama, ishal, anemi, ödem, kilo kaybı ve buna bağlı güçsüzlük gibi komplikasyonları içerir; kontrol edilmezse kernikterus, koma ve hatta ölüm görülebilir.[18] Yenidoğanlarda gözlenen fizyolojik sarılık, üridin 5-fosfat (UDP)-Glukuronil transferaz enziminin olgunlaşmasının gecikmesi ve aktivitesinin düşük olmasından dolayı konjugasyon sürecinin yetersiz olmasına bağlı gelişir ve indirekt bilirubin yükselir.[1] Hepatik sarılık UDP-Glukuronil transferaz enzimindeki genetik bir kusura bağlı olarak gelişebilir. Örnek olarak kalıtımsal non-hemolitik hiperbilirubinemi nedenlerinden biri olan Gilbert-Meulengracht hastalığı verilebilir. UGT1A1'deki mutasyonlar sonucunda[19] bozulmuş glukuronidasyon aktivitesi nedeniyle indirekt hiperbilirubinemi görülür ve hafif bir sarılık gözlemlenir.[19,20] Crigler-Najjar sendromu tip 1, UDP-Glukuronil transferaz aktivitesinin tamamen yokluğundan kaynaklanan bir otozomal resesif bozukluktur. Etkilenen hastalar yaşamın ilk birkaç gününde şiddetli hiperbilirubinemi ile başvurur ve sıklıkla bilirubin ensefalopatisine yol açar. Crigler-Najjar sendromu tip 2'li hastalar UDP-Glukuronil transferaz enzimlerinin bir miktar aktivitesini korur. Bu nedenle total bilirubin düzeyleri çok yüksek değildir ve hastalarda nadiren bilirubin ensefalopatisi gelişir.[19,21] Fulminan karaciğer yetmezliği ve son dönem siroz ile ortaya çıkan ciddi karaciğer hasarında, karaciğer hastalığı öncelikle indirekt hiperbilirubinemiye neden olabilir.[1]

Posthepatik sarılık durumunda direkt bilirubin seviyeleri yükselir. Çoğu akut hepatit ve kolestaz vakasında (safra akışının durması veya baskılanması) direkt bilirubinde artışa neden olur. İdrar bilirubini, direkt bilirubinin artan plazma konsantrasyonlarını yansıtır.[1]
Post-hepatik sarılığın en önemli nedeni ekstrahepatik safra tıkanıklığı olduğundan tıkanma sarılığı olarak da bilinir. Ekstrahepatik tıkanıklığın da doğuştan ve sonradan kazanılmış olmak üzere iki ana nedeni bulunur.[22-30] Tıkanma sarılığının klinik belirtileri koyu renkli idrar, soluk renkli dışkı ve yaygın kaşıntıdır. Ateşli biliyer kolik öyküsü, kilo kaybı, karın ağrısı ve karında kitle de tıkanma sarılığının belirtileridir.[23] Tıkanma sarılığı; kolanjit, pankreatit, böbrek ve karaciğer yetmezliği gibi çeşitli komplikasyonlara yol açabilir.[3] Artmış direkt bilirubin, bilirubin atılımındaki konjenital kusurlarda ve sepsis veya diğer akut hastalıklarda ortaya çıkan bozulmuş bilirubin atılımında nadiren görülür.[1] Direkt bilirubin artışına neden olan konjenital kusurlara bağlı posthepatik sarılığa Dubin-Johnson (DJS) ve Rotor sendromu örnek verilebilir. DJS, kronik, ağırlıklı olarak konjuge hemolitik olmayan hiperbilirubinemi ile karakterizedir ve fenotipi Rotor sendromuna benzer. Rotordan farklı olarak DJS'de safra asitleri dışındaki organik anyonların safra yoluyla atılımı da bozulmuştur.[21]

Yaygın NSAID'ler veya hipolipidemikler duyarlı kişilerde hafif bilirubin yükselmesine neden olur (ayrıntılı bilgi için bkz. Ref.31) Öte yandan oral kontraseptiflerin serum bilirubin konsantrasyonunu %30'a kadar düşürdüğü bilinmektedir.[32] Bilirubinin sistemik konsantrasyonları birçok nutrasötik ve diyet takviyesiyle de artırılabilir.[31] Örneğin, diyet takviyesi silybin ile tedavi edilen prostat kanserli hastalarda[33] ve aynı tedaviyi alan hepatit C hastalarında[34] silimarin flavonoidlerinin karaciğer dokusundaki bilirubin konjugasyonu üzerindeki inhibitör etkilerinden dolayı[35] hafif indirekt hiperbilirubinemi görülebilir.[36]

TEST PRENSİBİ

Kolorimetrik (arsenazo) metot

Bilirubin diazotize sülfonilik asitle asidik bir ortamda reaksiyona girerek kırmızı renkli azobilirubini oluşturur. Oluşan rengin yoğunluğu 500 nm dalga boyundaki aborbans okuması ile ölçülür ve numunedeki total bilirubin konsantrasyonu ile orantılıdır. Jendrassik-Gróf metotunda olduğu gibi[37] kafein reaksiyon hızlandırıcı olarak reaktif içeriğinde bulunmaktadır. Ayrıca benzoat benzer bir etkiye sahiptir. Çözündürme ajanı olarak sürfaktan da reaktif içeriğinde bulunmaktadır.[38]

Bilgi Notu:

- Bilirubin yaygın olarak diazotize sülfanilik asidin bilirubin ile reaksiyona girerek kolorimetrik olarak ölçülen kırmızı azodipiroller oluşturduğu Van Den Bergh reaksiyonu ile ölçülür. Sulu çözeltide suda çözünür konjuge bilirubin (direkt bilirubin), reaktifle hızlı bir şekilde (bir dakika içinde) reaksiyona girer ve "doğrudan reaksiyona girdiği" söylenir. Sulu çözeltide çok daha az çözünür olan unkonjuge (=indirekt) bilirubin daha yavaş reaksiyona girer.[3]
- Jendrassik ve Grof tarafından 1938'de tanımlanan[39] ve daha sonra Doumas ve arkadaşları tarafından modifiye edilen diazo yöntemi, serum total bilirubin için tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçlar verir.[40-43]

Bu prosedürde, kafein ve sodyum benzoatın sulu bir çözeltisi hızlandırıcı olarak görev yapar. Kafein-benzoat çözeltisinin konjuge olmayan bilirubinin diazo reaktifi ile reaksiyonunu kolaylaştırdığı mekanizma üzerine yapılan çalışmalar, dolaylı da olsa, kafeinin ve belki de benzoatın konjuge olmayan bilirubini albümin üzerindeki birleşme bölgelerinden uzaklaştırdığına dair güçlü kanıtlar sağlamıştır.[1,44-46]

REAKTİF BİLEŞENLERİ

Reaktif 1:

Sodyum benzoat	: ≤ 0.30 M
Sodyum asetat	: ≤ 0.50 M
Kafein	: ≤ 0.15 M
Sürfaktan	

Reaktif 2:

Sülfanilik asit	: ≤ 33 mM
Hidroklorik asit	: ≤ 0.20 M

REAKTİF HAZIRLAMA

Reaktifler kullanım için hazırdır.

REAKTİF STABİLİTESİ VE SAKLAMA ŞARTLARI

Reaktifler +2/+8˚C'de kapalı tutulduğu sürece etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

Açılan şişeler 30 gün +2/+8°C'de optimum şartlarda stabildir. Cihaz üstü stabilite otoanalizör soğutma spesifikasy onları ve carry-over değerleri ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.

Reaktif stabilitesi ve saklama şartları verileri, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP25-A protokolü kullanılarak doğrulanmıştır.[47]

NUMUNE GEREKLİLİKLERİ

Serum ve plazma standart prosedürle toplanır. Plazma için Li heparin, Na heparin, K_2-EDTA ya da K_3-EDTA içeren numune toplama tüpleri tercih edilmelidir. Işık ile temas önlenmelidir. Lipemik olmayan numuneler kullanılmalıdır. Birden çok numune dondurma ve çözme işleminden kaçınılmalıdır.

Serum ve plazmadaki total bilirubin stabilitesi[65]:

1 gün +20/+25ºC'de
7 gün +2/+8ºC'de
6 ay -20ºC'de

Bilgi Notu:

- Işıktan korunmayan serum numunelerinde serum bilirubin konsantrasyonlarında önemli düşüşler rapor edilmiştir, normal veya düşük bilirubin konsantrasyonlarına sahip numunelerde ise daha belirgin değişiklikler olmuştur.[35,48]

KALİBRASYON VE KALİTE KONTROL

Kalibrasyon: Bu test için Arcal Auto Kalibratör kullanımı gerekmektedir.

Arcal Auto Kalibratör-Liyofilize
Ref.No: VT-003

Kalibrasyon stabilitesi 30 gündür. Reaktif lot numarasındaki değişiklikler kalibrasyon gerektirir. Eğer kalite kontrol sonuçları kabul edilebilir limit aralıklarında değilse kalibrasyon yapmak gerekir.

Doumas metodu/NIST SRM 916'ya göre standardize edilmiştir.

Kontrol: Değerleri bu yöntemle belirlenmiş ticari olarak ulaşılabilen kontrol malzemesi kullanılabilir. Tavsiye edilen:

Arcon N Seviye 1 Kontrol- Liyofilize
Ref.No: VT-001

Arcon P Seviye 2 Kontrol- Liyofilize
Ref.No: VT-002

En az iki seviye kontrol ile her 24 saatte bir çalıştırılmalıdır. Her laboratuvarın kendi kalite kontrol prosedürlerini belirlemesi gerekmektedir. Daha sıkı kontrol takibi gerekiyorsa, laboratuvarınız için geliştirilmiş kalite kontrol prosedürlerine bakınız.

REFERANS ARALIKLARI / MEDİKAL KARAR DÜZEYLERİ

Yetişkinler[66]	: 0.2 - 1.2 mg/dL
Yenidoğan[67]:	
24 saate kadar	: < 6.0 mg/dL
48 saate kadar	: < 10.0 mg/dL
3-5 gün	: < 12. 0 mg/dL
7 gün	: < 10.0 mg/dL

Bilgi Notu:

- Serum bilirubin konsantrasyonları için referans aralıkları, çeşitli farklı popülasyonlar arasında değişkenlik gösterir; en düşük Afrikalı Amerikalılarda[49] ve en yüksek, Asyalı popülasyonlardadır.[35]
- Referans bireyleri seçerken yaş, cinsiyet, etnik köken, diyet, sigara içme durumu, alkol alımı, altta yatan karaciğer hastalığı, hemolitik hastalık, sirkadiyen ritimler, ilaçlar, fiziksel aktivite, antropometrik parametreler, tıbbi geçmiş ve/veya açlık durumunun bilirubin konsantrasyonlarını etkileyen en önemli değişkenler olduğu göz önüne alınmalıdır.[35]
- Yapılan bir çalışmada, her on yılda bir yaş artışının serum bilirubin konsantrasyonlarında 0,3 µmol/L'lik bir azalma ile ilişkili olduğunu, ancak bu durumun yalnızca erkeklerde olduğunu göstermiştir.[49] Diğer çalışmalarda yaşlı sağlıklı kontrol popülasyonunun yanlış tanımlanması nedeniyle bu ilişki net değildir.[35]

Tıbbi karar düzeyleri:

- **7-17 mg/dL:** 17 mg/dL'nin üstündeki serum total bilirubin düzeyleri patolojik olabilir.[50]
- **5-6 mg/dL:** Fizyolojik sarılık genellikle doğumdan 24 saat sonra gelişir. Yaklaşık 48-96 saatte zirveye ulaşır ve miadında doğan bebeklerde 2-3 haftada düzelir. Total bilirubin, term bebeklerde yaklaşık 72 saatte, erken doğmuş bebeklerde ise 72 saatten sonra zirveye ulaşır.[19] Gelişimini tamamlamış bir yenidoğanda 5-6 mg/dL'lik bir total serum bilirubin piki görülebilir. Asıl artan fraksiyon indirekt bilirubindir.[50] Sarılık yaşamın ilk gününde ortaya çıkıyorsa, yaşa özel bilirubin monogramlarına göre total bilirubin 95. persantilin üzerindeyse, düzeyler 5 mg/dL/günden fazla veya 0.2 mg/dL/saatten fazla artarsa, zamanında doğan bebeklerde sarılık 2 ila 3 haftadan fazla sürerse patolojik kabul edilir.[19]
- **>25 mg/dL:** Amerikan Çocuk Akademisi (AAP)'nin fototerapi ve kan değişimi için 2004 rehberinde önermiş olduğu serum total bilirubin eşik değeridir. Ancak çok sayıda risk faktörü varsa veya klinik değerlendirme sonucunda gerekli görüldüğü taktirde, fototerapiye daha erken veya AAP'nin önerdiğinden daha düşük bilirubin konsantrasyonlarında başlamamak için hiçbir neden yoktur.[51]

Bilgi Notu:

- Kernikterusta, özellikle indirekt bilirubin belirli bir konsantrasyonu aştığında, suda çözünen direkt bilirubinin aksine yağda çözündüğü için kan-beyin bariyerini geçebilir. Beyin dokusunda, özellikle de bazal ganglionlarda birikir. İndirekt bilirubinin nörotoksisitesi çeşitli nörolojik sekellere yol açar.[52]

Yenidoğan taburculuk öncesi serum Total Bilirubin öngörü değeri: Bu değer, doğum sonrası ilk hafta boyunca ırksal açıdan çeşitlilik gösteren, sağlıklı, term ve terme yakın yenidoğanlardan oluşan bir popülasyonda gözlemlenen serum total bilirubin düzeylerinin aralığını tanımlayan, saate özgü bir bilirubin nomogramı üzerinde çizilir. Buna göre serum total bilirubin değerlerine ilişkin yüzdelik eğriler yaklaşık 24 saatte ≥8 mg/dL, yaklaşık 48 saatte ≥14 mg/dL ve yaklaşık 84 saatte ≥17 mg/dL üzerinde ise, bu düzeylerin doğum sonrası saat cinsinden yaş için 95. persentilin üzerinde olduğu anlamına gelir ve bu düzeydeki hiperbilirubineminin anlamlı olduğu kabul edilir. Bu durumda genellikle yakın gözetim, olası ileri değerlendirme ve bazen kan değişimine başvurmadan beyin hasarının önlenmesi için müdahale gerekliliğine işaret eder.[53]

Her laboratuvar kendi hasta popülasyonu için beklenen değerlerin transfer edilebilirliğini araştırmalı ve eğer gerekli ise kendi referans aralığını belirlemelidir.

Referans aralığı, CLSI EP28-A3c protokolü kullanılarak doğrulanmıştır.[54]

Birim Dönüşüm:
mg/dL x 17.1 = µmol/L

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Ölçüm Aralığı (Measuring Interval)

CLSI EP34-ED1:2018'e göre "Ölçüm Aralığı" ilgili analitin alt miktar tayini sınırı (lower limit of quantitation; LLoQ) ile üst miktar tayini sınırı (upper limit of quantitation; ULoQ) arasında yer alan, seyreltme, konsantre etme veya herhangi bir ön işlem olmaksızın tıbbi olarak ve laboratuvar gereksinimi bakımından istenilen doğrulukta analit konsantrasyonunun ölçüldüğü aralığı ifade eder.[55]

Total Bilirubin için tespit edilen analitik ölçüm aralığı 0.15-20 mg/dL'dir.

Tayin Limitleri (Detection Capability)

Saptama sınırı (Limit of Detection: LoD): 0.1 mg/dL

Miktar tayini sınırı (Limit of Quantitation; LoQ): 0.15 mg/dL

Not: Bu değer belirlenirken yüzde değişim katsayısı (%CV) değerinden ≤ %20 değeri temel alınır.

LoD ve LoQ değerleri, CLSI EP17-A2:2012 protokolü kullanılarak doğrulanmıştır.[56]

Doğrusallık (Linearity)

Bu yöntem 20 mg/dL'ye kadar ölçüm doğrusallığını gösterir. Bu değerin üzerindeki konsantrasyonlarda otoanalizörün otomatik dilüsyonundan faydalanabilirsiniz. İlave bilgi için cihazın kullanım kılavuzuna bakabilirsiniz.

Manuel dilüsyon prosedürü için, numuneyi 1:5 oranında %0.90'lık isotonik kullanarak seyreltiniz. Bu işlemden sonra tekrar çalışılan numune sonucunu dilüsyon faktörü ile çarpınız. Dilüsyon sonrası numune sonucu lineer alt sınırdan düşük olduğunu gösterecek şekilde işaretlenmişse sonucu rapor etmeyiniz. Uygun bir dilüsyon kullanarak tekrar çalıştırınız.

Doğrusallık çalışmaları CLSI EP06-A:2003 rehberi kullanılarak doğrulanmıştır.[57]

Kesinlik (Precision)

Çalışma düzeni 20×2×2 "The Single Site" protokolüne göre oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda Tekrarlanabilirlik (Repeatibility) ve Laboratuvar İçi Kesinlik (Within-Laboratory precision/Within-Device Precision) değerleri elde edilmiştir.

Kullanılan protokole göre 20 gün boyunca (ardışık gün olma zorunluluğu yoktur) günde 2 ayrı çalışma (run) yapılmıştır. Bu protokol düşük ve yüksek numuneler için ayrı ayrı uygulanmış ve her bir numune için 80 sonuç elde edilmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak 2 faktörlü Nested-ANOVA modeli kullanılarak elde edilmiştir.[58]

Bilirubin Total'e ait tekrarlanabilirlilik ve laboratuvar içi kesinlik SD (standart sapma) ve %CV değerleri sırasıyla tablo 1 ve 2'de verilmiştir:

Tablo 1. İki Ayrı Konsantrasyondaki Numuneden Elde Edilen Total Bilirubin Tekrarlanabilirlilik Sonuçları

Ortalama konsantrasyon	SD	CV%	n
0.68 mg/dL	0.01	2.25	80
5.18 mg/dL	0.02	0.55	80

Not: Bu çalışma düzeni önceki yayınlanmış CLSI EP05-A2 rehberinde "within-run precision" olarak adlandırılmaktadır.[59]

Tablo 2. İki Ayrı Konsantrasyondaki Numuneden Elde Edilen Total Bilirubin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları

Ortalama konsantrasyon	SD	CV%	n
0.68 mg/dL	0.03	3.74	80
5.18 mg/dL	0.15	2.90	80

Not: Bu çalışma düzeni önceki yayınlanmış CLSI EP05-A2 rehberinde "total presizyon" olarak adlandırılmaktadır.[59]

Metot Karşılaştırma

Metot karşılaştırması verilerinin istatiksel değerlendirilmesi sonucunda:

Passing-Bablok denklemi:[60]
y= 1,179 x – 0,184 mg/dL
r= 0.96 olarak hesaplanmıştır.

İnterferans

Bilirubin Total interferans tarama testinde kullanılan endojen interferant ve analit konsantrasyonları "CLSI EP37-ED1:2018" ve "CLSI EP07-ED3:2018" kılavuzlarına uygun olacak şekilde belirlendi.[61,62]

Bilirubin Total interferans tarama testi sonucunda elde edilen gözlemlenen fark değerinin interferans bakımından anlamlı olup olmadığını tespit edebilmek için kullanılacak olan toplam kabul edilebilir hata oranı ±%10 olarak alındı.[63]

Bilirubin Total interferans testi sonucunda, belirlenmiş olan endojen interferant ve analit konsantrasyonlarında, interferantlar ve analit arasında belirgin bir etkileşim gözlenmedi.

İnterferant-Konsantrasyon	Bilirubin Total Hedef (mg/dL)	N*	Gözlemlenmiş Geri Elde %
İndikan (İndoksil Sülfat) 0.08 mmol/L	1.06	3	106

**Serum havuzu şeklinde hazırlanmış olan kontrol ve test (içinde interferant bulunan) numunelerinin kaç kez tekrarlı çalışılacağının hesaplanmasında ilgili metot için önceden tespit edilmiş tekrarlanabilirlik (with-in run) SD değerleri ve interferans limiti olarak belirlenmiş toplam kabul edilebilir hata oranı kullanıldı. Hesaplamalarda tip 1 hata (α hata) oranı %5 ve tip 2 hata oranı (β hata) %10 (%90 güç) kabul edildi.*[62]

Bilgi Notu:

- Hemolizsiz ve lipemik olmayan numuneler kullanılmalıdır.
- İndosiyanin yeşili içeren numunelerin ölçümü yapılmamalıdır.
- Naproksen metabolitleri gibi bazı ilaçlar diazo metotunu etkileyerek hatalı ölçümlere neden olabilir.[64]

Endojen interferantlar yanı sıra çeşitli ilaç ve metabolitlerinin, antikoagülanlar (örn. Heparin, EDTA, sitrat, oksalat) ve koruyucular (örn. Sodyum florür, iyodoasetat, hidroklorik asit) gibi örnek katkı maddelerinin, toplama ve işleme sırasında örneklerle temas edebilen maddelerin (serum ayırıcı cihazları, örnek toplama kapları ve içeriği, kateterler, kateter yıkama çözeltileri, cilt dezenfektanları, el temizleyicileri ve losyonlar, cam yıkama deterjanları, toz eldivenler vb.), belirli testleri etkilediği bilinen diyet maddelerinin (kafein, beta-karoten, haşhaş tohumu vb.) veya bir örnekte yabancı proteinlere (heterofilik antikorlar vb.), otoimmün yanıta (otoantikorlar vb.) veya maligniteye bağlı (örneğin paraproteinlerin, fosfat testi ve indirekt iyon seçici elektrot yöntemleri ile girişim oluşturması) oluşturan mevcut bazı maddelerin pek çok farklı nedenden ötürü çeşitli girişimlere ve yanlış değerlendirmelere neden olacak olumsuz etkilerinin ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır.[28]

Bu performans karakteristikleri otoanalizör kullanılarak elde edilmiştir. Sonuçlar farklı ekipmanlar ya da manuel prosedürler kullanıldığında bazı değişiklikler gösterebilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

IVD: In Vitro Diagnostik kullanım içindir.
Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri kullanmayınız.
Farklı iki lot numaralı reaktif birbirine karıştırılmamalıdır.
Profesyonel kullanım içindir.
İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP) ilkelerine uyunuz.

DİKKAT: Bu ürün ile birlikte insan kaynaklı örnekler işleme alınmaktadır. İnsan kaynaklı örneklerin tümü potansiyel bulaşıcı olarak kabul edilir ve OHSAS (İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi) standartlarına uygun olarak ele alınması tavsiye edilmektedir.

Tehlike

EUH032 :Asitle temasta çok zehirli gaz çıkarır.
H317 :Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.

Önlem

P280 :Koruyucu eldiven / koruyucu giysi / gözlük / maske kullanınız.
P264 :Kullandıktan sonra elinizi uygun şekilde yıkayınız.
P272 :Kirlenmiş iş kıyafetinin iş yeri dışında kullanımına izin verilmemelidir.

Müdahale

P302+P352 :Deri ile temasta bol sabun ve su ile yıkayınız.
P333+P313 :Deriyi tahriş eder ya da kızarıklık meydana gelirse tıbbi yardıma başvurunuz.
P362+P364 :Kontamine olmuş giysiyi çıkarınız ve kullanmadan önce uygun şekilde yıkayınız.

İmha

P501 :İçerikleri ve kapları yerel düzenlemelere göre atınız.

REFERANSLAR

1. Rifai, N., Chiu, R. W., & Young, I., et al., (2023) Tietz Textbook of Laboratory Medicine (7th ed.), Chapter 51: Liver Disease, p.701-763.e21, Elsevier, St. Louis, Missouri 63043.
2. Pelley, J. W., PhD., (2012) Elsevier's Integrated Review Biochemistry: With Student Consult Online Access, Chapter 12: Amino Acids and Heme Metabolism, p.99-107, Elsevier Health Sciences.
3. Ferrier, D. R., (2014), Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry (6th ed.), Chapter 21: Conversion of Amino Acids to Specialized Products, p.277-90, Wolters Kluwer Health.
4. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. Science 1987;235:1043–1046.

5. Mayer M. Association of serum bilirubin concentration with risk of coronary artery disease. Clin Chem 2000;46:1723–27.
6. Ollinger R, Kogler P, Troppmair J, Hermann M, Wurm M,Drasche A, Königsrainer I, Amberger A, Weiss H, Ofner D,Bach FH, Margreiter R. Bilirubin inhibits tumor cell growth via activation of ERK. Cell Cycle 2007;6:3078–85.
7. Schiff D, Chan G, Poznansky MJ. Bilirubin toxicity in neural cell lines N115 and NBR10A. Pediatr Res 1985;19:908–911.
8. Abbas, M. W., Shamshad, T., Ashraf, M. A., & Javaid, R. (2016). Jaundice: a basic review. International Journal of Research in Medical Sciences, 1313–1319. https://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20161196
9. Jacques G. Types of jaundices. Visual Understanding Environment (VUE). Enigma. 2009;18:55.
10. Wickramasinghe SN, Wood WG. Advances in the understanding of the congenital dyserythropoieticanaemias. Br J Haematol. 2005;131:431-46.
11. Glader B. Anemia: general consideration. In: Greer JP, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. Chapter 27. Lippincott, Williams & Wilkins Co; 2004:965-75.
12. Bektaş M, Dökmeci A, Cinar K, Halici I, Oztas E, Karayalcin S. Endoscopic management of biliary parasitic diseases. Dig Dis Sci. 2010;55(5):1472-8.
13. Lidofsky SD, Kobos R. Jaundice. In: Sleisenger and Fordtrant's Gastrointestinal and Liver Disease. 8ed. Philadelphia, Saunders Elsevier; 2006:301-16.
14. Beckingham IJ, Ryder SD. ABC of diseases of the liver, pancreas and biliary system: investigation of liver and biliary disease. BMJ. 2001;322:33-6.
15. Ryder SD, Beckingham IJ. ABC of diseases of the liver, pancreas and biliary system: other causes of parenchymal liver disease. BMJ. 2001;322:290-2.
16. Roche SP, Kobos R: Jaundice in the adult patient. Am Fam Physician. 2004;69:299-304.
17. Merriman RB, Peters MG. Approach to the patient with jaundice. In: Yamada T Textbook of Gastroenterology.4ed. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins; 2003:911-28.
18. Mathew KG. Medicine: Prep manual for undergraduates. 3/e. Elsevier. India; 2008:296-7.
19. Obeagu, E.I and Katya, M.C. (2022). A Systematic Review on Physiological Jaundice: Diagnosis and Management of the Affected Neonates. Madonna University Journal of Medicine and Health Science. 2 (3):25-41. https://madonnauniversity.edu.ng/journals/index.php/medicine
20. Strassburg, C. P. (2010). Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome). Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology, 24(5), 555–571. https://doi.org/10.1016/j.bpg.2010.07.007
21. Ansong-Assoku, B., D. Shah, S.D., Adnan, M., Pratibha A. Ankola, P.A.(2022). Neonatal jaundice.
22. Vendemiale G, Grattagliano I, Lupo L, Memeo V, Altomare E. Hepatic oxidative alterations in patients with extra-hepatic cholestasis. Effect ofsurgical drainage. J Hepatol. 2002;37(5):601-5.
23. Malhi H, Gores GJ, Malhi H, Gores GJ. Review article: the modern diagnosis and therapy of cholangiocarcinoma. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23(9):1287-96.
24. Barkun JS, Chaudhury P, Barkun AN. Approach to the Jaundiced Patient. ACS Surgery: principles and practice. 2006.
25. Yusuf TE, Bhutani MS, Yusuf TE, Bhutani MS. Role of endoscopic ultrasonography in diseases of the extrahepatic biliary system. J Gastroenterol Hepatol. 2004;19(3):243-50.
26. Baron TH. Palliation of malignant obstructive jaundice. Gastroenterol Clin North Am. 2006;35(1):101-12.
27. Gurusamy KS, Samraj K, Gurusamy KS, Samraj K. Primary closure versus T-tube drainage after laparoscopic common bile duct stone exploration. cochrane database of systematic reviews. 2007;(1):CD005641.
28. Gurusamy KS, Samraj K, Gurusamy KS, Samraj K. Primary closure versus T-tube drainage after open common bile duct exploration. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2007;(1):CD005640.
29. Tai CK, Tang CN, Ha JP, Chau CH, Siu WT, Li MK. Laparoscopic exploration of common bile duct in difficult choledocholithiasis. SurgEndosc. 2004;18(6):910-4.
30. Wamsteker EJ, Wamsteker EJ. Updates in biliary endoscopy 2006. Current Opinion in Gastroenterology. 2007;23(3):324-8.
31. L. Vitek, C. Bellarosa, C. Tiribelli, Induction of mild hyperbilirubinemia: hype or real therapeutic opportunity? Clin. Pharmacol. Ther. (2019), https://doi.org/10.1002/cpt.1341.
32. F. Schiele, M. Vincent-Viry, B. Fournier, M. Starck, G. Siest, Biological effects of eleven combined oral contraceptives on serum triglycerides, gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase, bilirubin and other biochemical variables, Clin. Chem. Lab. Med. 36 (1998) 871–878, https://doi.org/10.1515/CCLM.1998.153.
33. T.W. Flaig, D.L. Gustafson, L.J. Su, J.A. Zirrolli, F. Crighton, G.S. Harrison, A.S. Pierson, R. Agarwal, L.M. Glode, A phase I and pharmacokinetic study of silybin-phytosome in prostate cancer patients, Investig. New Drugs 25 (2007) 139–146, https://doi.org/10.1007/s10637-006-9019-2.
34. Z. Marino, G. Crespo, M. D'Amato, N. Brambilla, G. Giacovelli, L. Rovati, J. Costa, M. Navasa, X. Forns, Intravenous silibinin monotherapy shows significant antiviral activity in HCV-infected patients in the peri-transplantation period, J. Hepatol. 58 (2013) 415–420, https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.09.034
35. VíTek, L. (2019). Bilirubin as a predictor of diseases of civilization. Is it time to establish decision limits for serum bilirubin concentrations? Archives of Biochemistry and Biophysics, 672, 108062. https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108062
36. J. Suk, J. Jasprova, D. Biedermann, L. Petraskova, K. Valentova, V. Kren, L. Muchova, L. Vitek, Isolated Silymarin Flavonoids Increase Systemic and Hepatic

Bilirubin Concentrations and Lower Lipoperoxidation in Mice, Oxid Med Cell Long (2019) 6026902, https://doi.org/10.1155/2019/6026902
37. Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1999:1136-7
38. Winsten S, Cehelyk B. A., rapid micro diazo technique for measuring total bilirubin. Clin Chim Acta 1969;25(3):441-6.
39. Jendrassik L, Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. Biochem Z 1938;297:81–9.
40. Doumas BT, Poon PKC, Perry BW, et al. Candidate reference method for determination of total bilirubin in serum: development and validation. Clin Chem 1985;31:1779–89.
41. Doumas BT, Perry BW, McComb RB, et al. Molar absorptivities of bilirubin (NIST SRM 916a) and its neutral and alkaline azopigments. Clin Chem 1990;36:1698–701.
42. Lo SF, Jendrzejczak B, Doumas BT. Laboratory performance in neonatal bilirubin testing using commutable specimens: a progress report on a College of American Pathology study. Arch Pathol Lab Med 2008;132:1781–5.
43. National Institute of Standards and Technology. Certificate of Analysis: Standard Reference Material 916a, Bilirubin. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology; 2001.
44. Franzini C, Cattozzo G. Low affinity complex between bilirubin and caffeine. Clin Chem 1987;33:597–9.
45. Landis JB, Pardue HL. Kinetics of the reaction of unconjugated and conjugated bilirubins with p-diazobenzenesulfonic acid. Clin Chem 1978;24:1690–9.
46. Lo DH, Wu TW. Assessment of the fundamental accuracy of the Jendrassik and Grof total and direct bilirubin assays. Clin Chem 1983;29:31–6.
47. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline. CLSI Document EP25-A. Wayne, PA: CLSI; 2009.
48. N.N. Rehak, S.A. Cecco, G.L. Hortin, Photolysis of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting, Clin. Chim. Acta 387 (2008) 181–183.
49. S.D. Zucker, P.S. Horn, K.E. Sherman, Serum bilirubin levels in the US population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer, Hepatology 40 (2004) 827–835.
50. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Drug therapy: neonatal hyperbilirubinemia. N Engl J Med 2001;344(8):581-90.
51. Kaplan, M., & Hammerman, C. (2005). American Academy of Pediatrics guidelines for detecting neonatal hyperbilirubinaemia and preventing kernicterus. Archives of Disease in Childhood-fetal and Neonatal Edition, 90(6), F448–F449. https://doi.org/10.1136/adc.2004.068726
52. Reddy DK, Pandey S. Kernicterus. [Updated 2023 Jun 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559120/
53. Bhutani, V. K., Johnson, L., & Sivieri, E. M. (1999). Predictive ability of a predischarge hour-specific serum bilirubin for subsequent significant hyperbilirubinemia in healthy term and near-term newborns. Pediatrics, 103(1), 6–14. https://doi.org/10.1542/peds.103.1.6
54. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP28-A3c. Wayne, PA: CLSI; 2010.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking – 1st Edition. CLSI Document EP34. Wayne, PA: CLSI; 2018.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Wayne, PA: CLSI; 2012.
57. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach - 1st Edition. CLSI Document EP06-A. Wayne, PA: CLSI; 2003.
58. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3. Wayne, PA: CLSI; 2014.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition. CLSI Document EP05-A2. Wayne, PA: CLSI; 2004.
60. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
61. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry - First Edition. CLSI Document EP37. Wayne, PA: CLSI; 2018.
62. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference Testing in Clinical Chemistry - Third Edition. CLSI Document EP07. Wayne, PA: CLSI; 2018.
63. CLIA proficiency testing criteria for acceptable analytical performance, as printed in the Federal Register July 11, 2022;87(131:41194-242.
64. A. Dasgupta, L.J. Langman, M. Johnson, L. Chow, Naproxen metabolites interfere with certain bilirubin assays: elimination of interference by using a Roche bilirubin assay on the Hitachi 917 analyzer, Am. J. Clin. Pathol. 133 (2010) 878–883, https://doi.org/10.1309/AJCPN6MWATQ3SZTC.
65. 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.

66. Data on file at Archem.
67. Jacobs DS, Oxley DK, editors. Laboratory Test Handbook, 5th ed. Hudson, OH: Lexi-Comp; 2001:117–8

Archem Sağlık Sanayi ve Tic. A.Ş.
(Validity Sağlık Hiz.Sanayi A.Ş Şirketi ile resmi sözleşmeye dayalı üretim anlaşması)
Mahmutbey Mah. Halkalı Cad. No:124 Kat:4
Bağcılar/İstanbul/Türkiye
Tel: + 90 212 444 08 92
Fax: +90 212 629 98 89
info@archem.com.tr **www.archem.com.tr**
info@validity.com.tr **www.validity.com.tr**

SEMBOLLER

IVD	In Vitro Diagnostik Medikal Cihaz
LOT	Lot Numarası
R1	Reaktif 1
R2	Reaktif 2
GTIN	Küresel Ticari Ürün Numarası
REF	Referans Numarası
GLP	İyi Laboratuvar Uygulamaları
FOR USE WITH	Birlikte Kullanılacak Ürünleri Tanımlar
PRODUCT OF TURKEY	Türkiye Ürünü
	Üretici
	Son Kullanma Tarihi
	Sıcaklık Sınırlaması (Saklama Şartları)
	Kullanım Kılavuzuna Bakınız
	Dikkat
	Test Sayısı