

BILIRUBINA DIRETTA

Metodo colorimetrico con bianco campione

Reagenti liquidi pronti all'uso



REF. 0032/2 2x100 ml
REF. 0032 4x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa della bilirubina diretta nel siero.

SIGNIFICATO CLINICO

La bilirubina è un pigmento giallo derivato dal catabolismo del gruppo eme (principalmente dai globuli rossi senescenti). Esiste in due forme: bilirubina indiretta (non coniugata) che è trasportata al fegato legata all'albumina, e bilirubina diretta (coniugata) che si trova nel fegato coniugata con l'acido glucuronico, è idrosolubile ed escreta con la bile. Un aumento dei valori di bilirubina diretta può indicare malattie del fegato, colestasi e ostruzione biliare.

PRINCIPIO

La bilirubina diretta reagisce in ambiente acido con l'acido solfanilico diazotato formando un diazocomposto rosa (azobilirubina) la cui intensità è proporzionale alla quantità di bilirubina presente nel campione.

CAMPIONE

Siero fresco non emolizzato.

Analizzare i campioni entro 2 ore dal prelievo. Proteggere i campioni dalla luce. La luce diretta può causare un decremento di bilirubina fino al 50% in un'ora.

I campioni sono stabili 3 giorni a 2-8°C conservati al buio ed un mese a -20°C.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) BIL-D Volume = 100 ml	Acido solfanilico Acido cloridrico	40 mmol/l 270 mmol/l
Reagente (B) BIL-D Volume = 50 ml	Sodio nitrito	143 mmol/l

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati alle temperature indicate in etichetta e protetti dalla luce. Non usare dopo la data di scadenza.

Una volta aperti, i reagenti sono stabili 2 mesi in assenza di contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagenti liquidi, pronti all'uso.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP):

Reagente (A) :

EUH210 Scheda di sicurezza disponibile su richiesta

EUH208 Contiene: ACIDO SOLFANILICO

Può provocare una reazione allergica

I reagenti possono contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio. Smaltire i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda: 546 nm
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: 25, 37°C
Lettura: contro bianco reagente e bianco campione
Metodo: End Point con Bianco Campione

Utilizzo come bireagente:

Allestire due serie di provette, una per la misura del bianco dei campioni, l'altra per la misura delle assorbanze dei campioni.

pipettare:	Bianco Reattivo	Campione	Bianco Campione
Reagente (A)	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Campione		100 µl	100 µl
Acqua	100 µl		
Reagente (B)	70 µl	70 µl	

Agitare, incubare a 37°C per 3 minuti e leggere contro bianco reagente l'assorbanza del campione (Ax) e del bianco campione (Abx).

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

Per l'utilizzo con analizzatori, consultare le applicazioni specifiche.

CALCOLO DEI RISULTATI CON FATTORE (BIREAGENTE)

Bilirubina diretta mg/dl = (Ax - Abx) x 17.7 *

*Fattore variabile in funzione della metodica applicativa e/o strumento

CALCOLO DEI RISULTATI CON CALIBRATORE

Bilirubina diretta mg/dl = (Ax - Abx) / (Ac - Abc) x valore del calibratore

Fattore per passare da mg/dl a µmol/l = 17.1

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

adulti: ≤ 0.25 mg/dl (≤ 4.3 µmol/l)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

CONTROLLO DI QUALITÀ

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'uso dei materiali di controllo: PRECISENORM (REF.6000) e PRECISEPATH (REF.6001).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 0.05 mg/dl.

Linearità: il metodo è lineare fino a 20 mg/dl. Per valori superiori, diluire i campioni 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
Media (mg/dl)	0.22	0.58	5.38
DS	0.008	0.011	0.062
CV %	3.58	1.86	1.15

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
Media (mg/dl)	0.21	0.58	5.47
DS	0.007	0.007	0.060
CV %	3.51	1.17	1.09

Interferenze: i trigliceridi non interferiscono fino a 1000 mg/dl.

L'emoglobina non interferisce fino a 150 mg/dl.

Correlazione con metodo di riferimento: Y = 1.0453x + 0.0062

r = 0.9844

BIBLIOGRAFIA

1. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
2. J.A. Lott and B.T. Doumas, Clin. Chem. 641-647, 39 (1993).
3. Young D. S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
4. BurtisCA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed., Liver Function.

DIRECT BILIRUBIN

Colorimetric method with sample blank
Liquid Reagents ready to use



REF. 0032/2 2x100 ml
REF. 0032 4x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

INTENDED USE

Quantitative determination of Direct Bilirubin in serum.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is a yellow pigment derived from the catabolism of the heme group (mainly from senescent red blood cells). It exists in two forms: indirect (unconjugated) bilirubin, which is transported to the liver bound to albumin, and direct (conjugated) bilirubin, which in the liver is conjugated with glucuronic acid, is water-soluble, and excreted with bile. An increase in direct bilirubin values may indicate liver disease, cholestasis, or biliary obstruction.

PRINCIPLE

In an acid medium, direct bilirubin reacts with diazotized sulphanilic acid to form a pink diazo compound (azobilirubin), whose intensity is proportional to the concentration of direct bilirubin present in the sample.

SAMPLE

Not hemolyzed fresh serum.

Analyze samples within 2 hours after collection. Protect samples from light. Direct sunlight may cause up to 50% decrease in direct bilirubin within 1 hour.

The samples are stable 3 days at 2-8°C in the dark and one month at -20°C.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) BIL-D Volume = 100 ml	Sulphanilic Acid Hydrochloric acid	40 mmol/l 270 mmol/l
Reagent (B) BIL-D Volume = 50 ml	Sodium nitrite	143 mmol/l

The reagents are stable until the expiration date when stored at temperatures as indicated on the label and protected from light. Do not use over expiry date.

Once opened reagents are stable for 2 months if contamination is avoided. Keep bottles closed when not in use.

REAGENT PREPARATION

Liquid Reagents ready to use.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

EC Regulation 1272/2008 (CLP):

Reagent (A) :

EUH210 Safety data sheet available on request.

EUH208 Contains: SULFONIC ACID

May produce an allergic reaction.

Reagents may contain some non-reactive and preservative components. Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

PROCEDURE

Wavelength: 546 nm
Lightpath : 1 cm
Temperature: 25, 37°C
Reading: against reagent blank and sample blank
Method: End Point with Sample Blank

Use as bi-reagent:

Prepare two series of test tubes, one for the measurement of the samples blank, the other for the measurement of the samples absorbance.

pipette:	Reagent Blank	Sample	Sample Blank
Reagent (A)	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Sample		100 µl	100 µl
Water	100 µl		
Reagent (B)	70 µl	70 µl	

Mix, incubate at 37°C for 3 minutes and read against reagent blank the sample absorbance (Ax) and the blank sample absorbance (Abx).

Reaction volumes can be proportionally modified.

This method describes the manual procedure to use the kit.

For automated procedure, ask for specific applications.

RESULTS CALCULATION WITH FACTOR (BI-REAGENT)

Direct Bilirubin mg/dl = (Ax - Abx) x 17.7*

*Variable factor depending on the application method and/or instrument

RESULTS CALCULATION WITH CALIBRATOR

Direct Bilirubin mg/dl = (Ax - Abx)/(Ac - Abc) x Calibrator Value
Factor to convert mg/dl in µmol/l = 17.1

EXPECTED VALUES

adults: ≤ 0.25 mg/dl (≤ 4.3 µmol/l)

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of control sera: PRECISENORM (REF.6000) and PRECISEPATH (REF.6001).

PERFORMANCE

Sensitivity: the sensitivity of the method is: 0.05 mg/dl.

Linearity: the method is linear up to 20 mg/dl. For higher values, dilute the sample 1:2 and multiply the result by 2.

Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (mg/dl)	0.22	0.58	5.38
DS	0.008	0.011	0.062
CV %	3.58	1.86	1.15

Precision inter-assay:

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (mg/dl)	0.21	0.58	5.47
DS	0.007	0.007	0.060
CV %	3.51	1.17	1.09

Interferences: The triglycerides do not interfere up to 1000 mg/dl. Hemoglobin does not interfere up to 150 mg/dl.

Correlation against a reference method: Y = 1.0453x + 0.0062
r = 0.9844

REFERENCES

1. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
2. J.A. Lott and B.T. Dumas, Clin. Chem. 641-647, 39 (1993).
3. Young D. S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
4. BurtisCA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed., Liver Function.