

BILIRUBINA DIRETTA

Metodo colorimetrico con bianco campione

Reagenti liquidi pronti all'uso

REF. 0032/50 4x 50 ml
REF. 0032/2 2x100 ml
REF. 0032 4x100 ml



AZIENDA CERTIFICATA DNV
UNI EN ISO 9001:2008
UN EN ISO 13485:2012



USO PREVISTO

Determinazione quantitativa della bilirubina diretta nel siero.

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 = 50/100 ml	Acido solfanilico Acido cloridrico	40 mmol/l 270 mmol/l
Reagente (B) BIL-D Volume = 25 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.

Per l'utilizzo come monoreagente: unire i Reagenti (B) ed (A) nel rapporto 1:61. Aggiungere 0.5 ml di Reagente (B) a 30 ml di Reagente (A).

La soluzione di lavoro (A+B) è stabile almeno 5 giorni a temperatura ambiente (15-25°C) in bottiglia scura, al riparo dalla luce.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP):

Reagente (A):

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 (550)

Cammino ottico: 1 cm

Temperatura: 25, 30, 37°C

Lettura: contro bianco reagente e bianco campione

Metodo: End Point in incremento

Utilizzo come monoreagente:

pipettare:	bianco reattivo	campione	bianco campione
Reagente (A+B)		1500 µl	
Reagente (A)	1500 µl		1500 µl
campione		100 µl	100 µl
acqua	100 µl		

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)	1400 µl	1400 µl	1400 µl
Reagente (B)	20 µl	20 µl	
campione		120 µl	120 µl
acqua	120 µl		20 µl

Agitare, incubare a 25, 30, 37°C per 5 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 14.9

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 sieri 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:

	Livello1	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:

	Livello1	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. Dumas, Clin. Chem. 641-647, 39 (1993).
3. Young D. S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).

Giesse Diagnostics srl

V. Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18,300 - 00012 Guidonia Montecelio (RM) - Italia

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: info@giessediagnostics.com - web site: www.giessediagnostics.com

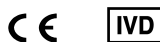
003207

Ed. 2014/12 rev. 01

DIRECT BILIRUBIN

Colorimetric method with sample blank
Liquid Reagents ready to use

REF. 0032/50 4x 50 ml
REF. 0032/2 2x100 ml
REF. 0032 4x100 ml



DNV CERTIFIED COMPANY

UNI EN ISO 9001:2008
UN EN ISO 13485:2012



INTENDED USE

Quantitative determination of Direct Bilirubin in serum.

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 = 50/100 ml	Sulphanilic Acid hydrochloric acid	40 mmol/l 270 mmol/l
Reagent (B) BIL-D Volume = 25 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.

For use as Monoreagent: combine the Reagent (B) and (A) in the ratio 1:61. Add 0.5 ml of Reagent (B) to 30 ml of Reagent (A).

The working solution (A+B) is stable at least 5 days at room temperature (15-25°C) in a dark bottle, protected from light.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

EC Regulation 1272/2008 (CLP):

Reagent (A):

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 (550)
Lightpath: 1 cm
Temperature: 25, 30, 37°C
Reading: against reagent blank and sample blank
Method: Increasing End Point

Use as monoreagent:

pipette:	reagent blank	sample	sample blank
Reagent (A+B)		1500 µl	
Reagent (A)	1500 µl		1500 µl
sample		100 µl	100 µl
water	100 µl		

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)	1400 µl	1400 µl	1400 µl
Reagent (B)	20 µl	20 µl	
sample		120 µl	120 µl
water	120 µl		20 µl

Mix, incubate at 25, 30, 37°C for 5 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 14.9

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).

Giesse Diagnostics srl

V. Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18,300 - 00012 Guidonia Montecelio (RM) - Italia

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: info@giessediagnostics.com - web site: www.giessediagnostics.com

003207

Ed. 2014/12 rev. 01