

# BILIRUBINA TOTALE

Metodo colorimetrico  
Reagenti liquidi pronti all'uso

REF. 0037/50 4x 50 ml  
REF. 0037/2 2x100 ml  
REF. 0037 4x100 ml



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



## USO PREVISTO

Determinazione quantitativa della bilirubina totale nel siero.

## PRINCIPIO

La bilirubina totale reagisce in ambiente acido con l'acido solfanilico diazotato formando un diazocomposto rosa (azobilirubina) la cui intensità di colore è proporzionale alla quantità di bilirubina presente nel campione. Mentre la bilirubina diretta, cioè coniugata con acido glucuronico, è idrosolubile e reagisce direttamente, la bilirubina totale si ottiene mediante la presenza di un solubilizzante che scinde il legame con l'albumina.

## 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 12 ore a 2-8°C conservati al buio ed un mese a -20°C.

## COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) BIL-T Volume = 50/100 ml	Acido solfanilico Acido cloridrico Solubilizzante	46 mmol/l 270 mmol/l 10 mmol/l
Reagente (B) BIL-T 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 1:51. Aggiungere 0.5 ml di Reagente (B) a 25 ml di Reagente (A).

La soluzione di lavoro (A+B) è stabile 5 giorni in frigo (2-8 °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:	536 nm (520 - 550)
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Lettura:	contro bianco reagente

### Utilizzo come monoreagente:

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

### Utilizzo come bireagente:

pipettare:	bianco	campione	calibratore
Reagente (A)	1200 µl	1200 µl	1200 µl
acqua	100 µl		
campione		100 µl	
calibratore			100 µl
Reagente (B)	40 µl	40 µl	40 µl

Agitare e leggere l'assorbanza del bianco campione (Abx) entro 20 secondi. Incubare per 5 minuti a 37°C e leggere l'assorbanza del campione (Ax) e del calibratore (Ac).

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 totale mg/dl = (Ax - Abx) x 21 a 546 nm

## CALCOLO DEI RISULTATI CON CALIBRATORE

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

*Si consiglia l'uso del Calibratore proteico umano Ref. 6002/8 (Opzionale)*

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

## INTERVALLI DI RIFERIMENTO

adulti: 0.2 - 1.2 mg/dl ( 3.4 - 20.5 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: 0.06 mg/dl.

**Linearità:** il metodo è lineare fino a 11 mg/dl (nell'utilizzo come monoreagente) e fino a 25 mg/dl (per il bireagente). 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)	0.58	1.03	6.00
DS	0.019	0.020	0.052
CV %	3.27	1.93	0.86

**Precisione tra le serie:**

	Livello1	Livello 2	Livello 3
Media (mg/dl)	0.55	1.05	5.82
DS	0.011	0.029	0.104
CV %	1.98	2.75	1.78

**Interferenze:** i trigliceridi non interferiscono fino a 2000 mg/dl.

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

**Correlazione con metodo di riferimento:** Y = 0.975x + 0.042 r = 0.9994

## 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).

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](mailto:info@giessediagnostics.com) - web site: [www.giessediagnostics.com](http://www.giessediagnostics.com)

003707

Ed. 2015/05 rev. 02

# TOTAL BILIRUBIN

Colorimetric Method  
Liquid Reagents ready to use

REF. 0037/50 4x 50 ml  
REF. 0037/2 2x100 ml  
REF. 0037 4x100 ml



DNV CERTIFIED COMPANY  
UNI EN ISO 9001:2008  
UN EN ISO 13485:2012



## INTENDED USE

Quantitative determination of Total Bilirubin in the serum.

## PRINCIPLE

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

Direct bilirubin consists of glucuronic acid conjugated derivatives, is water soluble and it reacts directly. Total bilirubin is obtained by the presence of a solubilizing agent that cleaves the bond with albumin.

## 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 12 hours at 2-8°C in the dark and one month at -20°C.

## KIT COMPONENTS

Reagent (A) BIL-T Volume = 50/100 ml	Sulphanilic Acid Hydrochloric acid Solubilizing agent	46 mmol/l 270 mmol/l 10 mmol/l
Reagent (B) BIL-T 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 1:51. Add 0.5 ml of Reagent (B) to 25 ml of Reagent (A).

The working solution (A+B) is stable 5 days in refrigerator (2-8 °C) in a dark bottle, protected from light.

## PRECAUTIONS AND WARNINGS

EC Regulation 1272/2008 (CLP):

Reagent (A):

**EUH208** Contains: SULFANILIC 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: 536 nm (520 - 550)

Lightpath: 1 cm

Temperature: 37°C

Reading: against blank reagent

### Use as monoreagent:

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

### Use as bi-reagent:

pipette:	blank	sample	calibrator
Reagent (A)	1200 µl	1200 µl	1200 µl
water	100 µl		
sample		100 µl	
calibrator			100 µl
Reagent (B)	40 µl	40 µl	40 µl

Mix and read the absorbance of blank sample (Abx) in 20 seconds. Incubate for 5 minutes at 37°C and read the absorbance of the sample (Ax) and the calibrator (Ac).

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)

Total bilirubin mg/dl = (Ax - Abx) x 21 at 546 nm

## RESULTS CALCULATION WITH CALIBRATOR

Total bilirubin mg/dl = (Ax - Abx)/(Ac - Abc) x Calibratore Value

**Human proteic calibrator Ref. 6002/8 is advised (Optional).**

Factor to convert mg/dl in µmol/l = 17.1

## EXPECTED VALUES

adults: 0.2 - 1.2 mg/dl ( 3.4 - 20.5 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: 0.06 mg/dl.

**Linearity:** the method is linear up to 11 mg/dl (in the use as monoreagent) and up to 25 mg/dl (for the bi-reagent). For higher values, dilute with saline 1:2 the sample and multiply the result by 2.

### Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (mg/dl)	0.58	1.03	6.00
DS	0.019	0.020	0.052
CV %	3.27	1.93	0.86

### Precision inter-assay:

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (mg/dl)	0.55	1.05	5.82
DS	0.011	0.029	0.104
CV %	1.98	2.75	1.78

**Interferences:** triglycerides up to 2000 mg/dl do not interfere.

Hemoglobin up to 150 mg/dl does not interfere.

**Correlation against a reference method:** Y = 0.975x + 0.042 r = 0.9994

## REFERENCES

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).

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](mailto:info@giessediagnostics.com) - web site: [www.giessediagnostics.com](http://www.giessediagnostics.com)

003707

Ed. 2015/05 rev. 02