

BILIRUBINA DIRETTA

Metodo colorimetrico con bianco campione

Kit per la determinazione quantitativa della bilirubina diretta nel siero.



IVD Per uso diagnostico in vitro **REF** 0032 - 4x100mL

PRINCIPIO:

La bilirubina totale, in ambiente acido, reagisce con acido solfanilico diazotato formando un azocomposto (azobilirubina) colorato in rosso la cui intensità di colore risulta direttamente proporzionale alla quantità di bilirubina presente nel siero.

Mentre la bilirubina diretta, cioè coniugata con acido glucuronico è idrosolubile e reagisce direttamente, la bilirubina totale si ottiene mediante la presenza di un accelerante che scinde il legame con l'albumina.

La bilirubina indiretta può essere calcolata per differenza tra la bilirubina totale e la bilirubina diretta.

CAMPIONE:

Siero fresco non emolizzato.

I campioni dovranno essere analizzati entro due ore dal prelievo se conservati a temperatura ambiente al buio. La BIL-D nel siero è stabile 12 ore in frigo a +2/8°C. e tre mesi in congelatore a -20°C. se protetto dalla luce. Luce diretta può causare un decremento della BIL-D fino al 50% in un'ora.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

REATTIVI LIQUIDI PRONTI ALL'USO:

Reattivo (A) BIL-D Liquido Vol. = 100mL	Acido Solfanilico Acido Cloridrico 23%	<1% <5%
Reattivo (B) BIL-D Liquido-Vol.=25mL	Sodio Nitrito	<1%

CONFEZIONE: Conservazione e stabilità

Conservare alle temperature indicate in etichetta.

Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Dopo l'apertura e il prelievo del reattivo, si consiglia di richiudere immediatamente il flacone, al fine di evitare contaminazione batterica, luce diretta ed evaporazione.

PRECAUZIONI / SIMBOLI DI PERICOLOSITA' :

Non pipettare con la bocca.

Il preparato, secondo la normativa vigente, non è classificato come pericoloso.

Il preparato Reattivo (A) contiene acido solfanilico:

Può provocare una reazione allergica.

La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti, stabilizzanti) è inferiore ai limiti richiesti per la citazione. Maneggiare tuttavia il prodotto con cautela, secondo le norme di buona pratica di laboratorio, evitando l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le mucose. Tutti i campioni devono essere trattati come materiale potenzialmente infetto da HIV o Epatite.

PREPARAZIONE E STABILITA' DEL REATTIVO DI LAVORO:

Reattivi liquidi, da portare a temperatura ambiente prima dell'uso.

I reattivi si presentano limpidi e incolori.

Procedura monoreattivo:

Aggiungere in rapporto 1:61 i Reattivi (B) e (A).

Aggiungere 0.5mL di Reattivo (B) a 30mL di Reattivo (A).

Stabile almeno 5 giorni a T.A. (+25°C.) in bottiglia scura.

Procedura bireattivo:

Reattivi liquidi pronti all'uso.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI:

Strumentazione e attrezzatura generale da laboratorio.

PROCEDIMENTO:

Lunghezza d'onda: 555nm (546-578)
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: T.A.(+15/25)/30/37°C.
Lettura: Contro bianco reattivo
Reazione: Fixed Time
Rapporto Campione/Reattivo: 1/15 (Monoreattivo)

Procedura monoreattivo (Pipettare nelle provette):

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

	BIANCO REATTIVO	CAMPIONE	BIANCO CAMPIONE	
Reattivo(A+B)		1500		µL
Reattivo (A)	1500		1500	µL
Campione		100	100	µL
Acqua	100			

Procedura bireattivo(Pipettare nelle provette):

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

	BIANCO REATTIVO	CAMPIONE	BIANCO CAMPIONE	
Reattivo(A)	1500	1500	1500	µL
Reattivo(B)	25	25		µL
Campione		100	100	µL
Acqua	100		25	

Agitare, incubare per 5' **ESATTI** a T.A. (+15/25°C.) e leggere l'estinzione del campione e del bianco campione.

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 CON FATTORE:

BIL-D = (E) Campione x 12 a 546/578nm

CALCOLO CON CALIBRATORE:

BIL-D mg/dL = $\frac{(E) \text{ Campione} - (E) \text{ Bianco Campione}}{(E) \text{ Calibratore} - (E) \text{ Bianco Calibratore}} \times \text{Val. Cal.}$
Fattore per passare da mg/dL a µmol/L = 17.1

VALORI DI RIFERIMENTO:

BIL-D = < 0.35mg/dL - < 5.1µmol/L

I valori sopra riportati devono essere considerati indicativi, in quanto si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica, secondo il protocollo IFCC.

SMALTIMENTO RIFIUTI:

Il prodotto dev'essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

CONTROLO DI QUALITA':

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'utilizzo dei sieri di controllo REF.6000 (Ambito Normale) e REF.6001(Ambito Patologico).

BIBLIOGRAFIA:

Ehrlich, P., Zeitschr, Sur Anal. Chemie 23:275 (1884).

Vassault, A. et al. Ann.Biol.Clin.,44,686,(1986).

PRESTAZIONI DEL METODO:

In manuale e con Cobas Mira S

INTERVALLO DI MISURA / LINEARITA': 0.056 -20mg/dL

LIMITE MISURABILE(2DS): 0.0558mg/dL

SENSIBILITA': 0.1mg/dL = 0.00652A a 546nm

PRECISIONE NELLA SERIE(2DS): n=20

LIVELLO BASSO	M=0.19mg/dL	C.V.=2.78%
LIVELLO MEDIO	M=0.65mg/dL	C.V.=1.20%
LIVELLO ALTO	M=3.12mg/dL	C.V.=0.95%

PRECISIONE TRA LE SERIE(2DS): n=20

LIVELLO BASSO	M=0.20mg/dL	C.V.=5.12%
LIVELLO MEDIO	M=0.66mg/dL	C.V.=1.52%
LIVELLO ALTO	M=3.16mg/dL	C.V.=1.27%
CORRELAZIONE	r = 0.998	n= 40
REGRESSIONE LIN.	y = 1.04x + 0.07	n=40

INTERFERENZE:

Le interferenze sono trascurabili fino a:

Emoglobina	500mg/dL
Trigliceridi	2000mg/dL

LIMITI DEL METODO:

Per concentrazioni superiori a 20 mg/dL, ripetere l'analisi su campione diluito 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

Per una completa valutazione delle sostanze interferenti vedi il lavoro di: Young, D.S.,et al.,Clin.Chem. 21:1D (1975).



Giessere Diagnostica snc

Via Cervinara,45 - Colle Prenestino - Rome - Italy

Tel.: +39 06 22429353 / +39 06 22429097 - Fax: +39 06 22429098

E-Mail:info@giessediagnostics.com

Web Site:www.giessediagnostics.com



Prodotto conforme alla direttiva 98/79CE

Edizione Dicembre 2004-Rev.3