



Ref. PDI125230

BILIRUBINA DIRETTA

Conf. 110 ml

IVD

INTRODUZIONE

La bilirubina è un prodotto di degradazione dell'emoglobina. Libera, non coniugata, è quasi apolare e praticamente insolubile in acqua; legata all'albumina forma un complesso solubile che ne consente il trasporto nel sangue dalla milza al fegato. Nel fegato la bilirubina viene coniugata con l'acido glucuronico ed il prodotto risultante, solubile in acqua, viene escreto attraverso i dotti biliari. L'iperbilirubinemia può essere causata dall'aumentata produzione di bilirubina dovuta ad emolisi (ittero pre-epatico), da danni al parenchima epatico (ittero intra-epatico) o da occlusione dei dotti biliari (ittero post-epatico). Una forma cronica di iperbilirubinemia congenita (predominanza di forma non coniugata), denominata sindrome di Gilbert, è assai frequente nella popolazione. Elevati livelli di bilirubina totale si osservano nel 60-70% dei neonati in seguito ad aumentata degradazione degli eritrociti dopo il parto e per il ritardato funzionamento degli enzimi adibiti alla degradazione della bilirubina. I comuni metodi di determinazione della bilirubina dosano sia la bilirubina totale che la diretta. La determinazione della bilirubina diretta misura in prevalenza la bilirubina coniugata, solubile in acqua. La bilirubina non coniugata può perciò essere stimata dalla differenza fra la bilirubina totale e la diretta.

PRINCIPIO DEL METODO

Il test si basa su un metodo Jendrassik- Gróf modificato. La bilirubina diretta, in soluzione acida, reagisce con l'acido sulfanilico diazotato formando un azocomposto colorato (azobilirubina), la cui intensità è direttamente proporzionale alla concentrazione di bilirubina diretta nel campione.

COMPOSIZIONE

A) REAGENTE A: 5x20 ml (Ref. PDI1252301)
Acido sulfanilico 30 mmol/l
Acido cloridrico 170 mmol/l

B) REAGENTE B: 1x10 ml (Ref. PDI1252302)
Nitrito di sodio 29 mmol/l

I reattivi sono pronti all'uso.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare a temperatura ambiente (18-25°C). Non congelare i reagenti!

Dopo apertura

- Il REATTIVO A ed il REATTIVO B sono stabili fino alla data di scadenza riportata in etichetta, se si evitano contaminazione ed evaporazione.
- Le condizioni sopracitate sono valide se i flaconi sono aperti solamente per il tempo di prelevare la quantità

desiderata, richiudi immediatamente con il proprio tappo e conservati alla temperatura indicata.

MATERIALI AUSILIARI

- Pipette automatiche
- Fotometro
- Cuvette d'analisi (Cammino ottico = 1 cm)
- Cella termostata
- Soluzione di NaCl (9 g/l)
- Calibratore Bilirubina o Multicalibratore

CAMPIONE

Siero fresco non emolizzato o plasma. Il siero deve essere analizzato entro 2 ore. La torbidità del campione dovuta alla presenza di macromolecole può interferire. In questo caso, si suggerisce la centrifugazione o la filtrazione con filtri di membrana 0.2 µ. Evitare l'esposizione alla luce.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti: fino a 0.25 mg/dl (4.3 µmol/l)

Ogni laboratorio deve stabilire i propri valori di riferimento in funzione della popolazione su cui opera.

SENSIBILITÀ

La sensibilità del metodo, in termini di limite di detenzione (valore medio + 3 DS), è di 0.03 mg/dl (0.51 µmol/l).

INTERVALLO DI MISURA

Il test è stato sviluppato per determinare concentrazioni di bilirubina diretta all'interno di un intervallo di misura di 0.03 - 20 mg/dl (0.51 - 342 µmol/l).

Se questi valori vengono superati, i campioni devono essere diluiti 1+9 con una soluzione di NaCl (9 g/l) e moltiplicare poi il risultato per 10.

CORRELAZIONE

Il confronto di questo metodo(y) con un metodo simile(x) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.0232x - 0.7022 \quad r = 0.9984 \quad N = 50$$

NOTE

La reazione viene inibita da sostanze riducenti. I campioni di pazienti in trattamento massivo con acido ascorbico possono dare risultati falsamente bassi.

CALBRATORI E/O CONTROLLI

È consigliato, nell'esecuzione della metodica, inserire dei sieri di controllo i cui valori di bilirubina diretta siano noti, per controllare la rispondenza dei dati ottenuti con quelli previsti e validare di conseguenza i dati.



Si consiglia di analizzare i due livelli dei controlli almeno una volta al giorno. I valori ottenuti devono rientrare nel range specificato. Se i valori dovessero essere fuori da questo range e se un eventuale errore nell'esecuzione fosse escluso dalla ripetizione del test, è opportuno applicare i seguenti punti:

1. Controllare la programmazione dello strumento e la sorgente di luce.
2. Assicurarci della pulizia di tutti gli strumenti usati.
3. Controllare l'acqua; eventuali contaminazioni (ad es. batterica) possono contribuire a dare risultati imprecisi.
4. Controllare la temperatura di reazione.
5. Controllare la data di scadenza del kit e del suo contenuto.

PRECAUZIONI

Il reagente contiene sodio azide come conservante (0.1 %). Non ingerire! Evitare il contatto con la pelle e le mucose. In caso di spargimento accidentale diluire con acqua.

Tali prodotti sono solo per uso professionale e vanno utilizzati da personale qualificato.

SPECIFICITA'

Il reattivo determina unicamente la concentrazione di Bilirubina Diretta in campioni di origine umana.

TRATTAMENTO DEI RIFIUTI

Riferirsi ai regolamenti ufficiali.

CLASSIFICAZIONE EDMA

Nome Bilirubina Diretta n. 11.01.02.03.00.

BIBLIOGRAFIA

Charles T.W. Lam, Elkhart, Test composition, device and method for detecting Bilirubin. (1975).

Ferrero C, Modenese A, Bonini PA, Ceriotti F, Carobene A, Franzin M, G. Guder W, Hofmann W, PUUKKA M, Laitinem H, Makarovsy V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484.

Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11(1994).

Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metez-France.

Pasquinelli F. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio-4-Profilo Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990).

Shauna C., Anderson & Susan Cockayne. Clinical Chemistry-Concepts & Applications (2003).

E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio-Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006).

Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996).





Ref. PDI125230

DIRECT BILIRUBIN

Conf. 110 ml

IVD

INDICATION

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin. Free, unconjugated, is nearly apolar and practically insoluble in water, bound to albumin forms a soluble complex that can transport blood from the spleen to the liver. In the liver, bilirubin is conjugated with glucuronic acid and the resulting product is soluble in water, is excreted through the bile ducts. Hyperbilirubinemia may be caused by increased bilirubin due to hemolysis (pre-hepatic jaundice), damage to liver parenchyma (intra-hepatic jaundice) or occlusion of the bile ducts (post-hepatic jaundice). A chronic form of congenital hyperbilirubinemia (predominantly unconjugated form), called Gilbert syndrome is very common in the population. Elevated levels of total bilirubin were observed in 60-70% of infants after increased degradation of erythrocytes after birth and for the delayed operation of the enzymes used for degradation of bilirubin. Common methods of determination of total bilirubin bilirubin that is dosed on the air. The determination of direct bilirubin measure predominantly conjugated bilirubin, soluble in water. The unconjugated bilirubin can therefore be estimated from the difference between the total and direct bilirubin.

ASSAY PRINCIPLE

The test is based on a method modified Jendrassik-Grof. The direct bilirubin, in acid solution, reacts with diazotized sulfanilic acid to form a colored azocompound (azobilirubin), whose intensity is directly proportional to the concentration of direct bilirubin in the sample.

COMPOSITION

A) REAGENT A: 5x20 ml (Ref. PDI1252301)
Sulfanilic Acid 30 mmol/l
Hydrochloric Acid 170 mmol/l

B) REAGENT B: 1x10 ml (Ref. PDI1252302)
Sodium Nitrite 29 mmol/l

The reagents are ready for use.

CONSERVATION AND STABILITY

Store at room temperature (18-25 °C).

Do not freeze the reagents!

After opening:

- REAGENT A and REAGENT B are stable until the expiration date printed on the label, if you avoid contamination and evaporation.
- The above conditions are valid if the bottles are opened only for taking the time to take the desired amount, immediately closed with its cap and stored at the temperature indicated.

ANCILLARY EQUIPMENT

- Automatic pipettes
- Photometer
- Sample cuvette (optical path = 1 cm)
- Thermostatic cell
- NaCl solution (9 g/l)
- Calibrator Bilirubine or Multicalibrator

SAMPLE

Fresh serum not hemolyzed or plasma. Serum should be analyzed within 2 hours. The turbidity of the sample due to the presence of macromolecules may interfere. In this case, we suggest the centrifugation or filtration through membrane filters of 0.2 µ. Avoid exposure to light.

STANDARD VALUE

Adult: up to 0.25 mg/dl (4.3 µmol/L).

Each laboratory should establish its own normal values according to the population in which it operates.

SENSIBILITY

The sensibility of the method (Average + 3 DS), is of 0.03 mg/dl (0.51 µmol/L).

MEASURING

The test was developed for determination of direct bilirubin in a measuring range of 0.03 - 20 mg/dl (0.51 - 342 µmol/L). If these values are exceeded, samples should be diluted 1 +9 with a NaCl solution (9 g/l) and the result multiplied by 10.

CORRELATION

The comparison of this method(y) with a similar method(x) gave the following correlation:

$$y = 1.0232x - 0.7022 \quad r = 0.9984 \quad N = 50$$

NOTE

The reaction is inhibited by reducing agents, samples of patients with massive ascorbic acid may cause falsely low.

CALIBRATOR AND/OR CONTROL

It is recommended in the execution of the method, type of control sera with values of direct bilirubin are known to check compliance of data and planned results and thus validate the data. It is advisable to analyze two levels of checks at least once a day. The values obtained must be in the range specified. If values were to be outside this range and if a possible error in question was excluded from the repetition of the test, you should apply the following points:

1. Check instrument settings and the source of light.
2. Check cleanliness of all equipment in use.
3. Check water, possible contamination (eg. Bacterial) may contribute to inaccurate results.



4. Check the temperature of reaction.
5. Check the expiry date of kit and its contents.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

PRECAUTIONS

The reagent contains sodium azide as preservative (0.1 %).

Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes. In case of spillage, dilute with water.

These products are only for professional use and should be used by qualified personnel.

SPECIFICITY

The reagent only determines Direct Bilirubin in samples of human origin.

CLASSIFICATION EDMA

Name Direct Bilirubin n. 11.01.02.03.00

Ver. 002 del 07.07.2010

BIBLIOGRAPHY

Charles T.W. Lam, Elkhart, Test composition, device and method for detecting Bilirubin. (1975).

Ferrero C, Modenese A, Bonini PA, Ceriotti F, Carobene A, Franzin M, G. Guder W, Hofmann W, PUUKKA M, Laitinen H, Makarovsy V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484.

Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11(1994).

Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metz-France.

Pasquinelli F. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio-4-Profilo Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990).

Shauna C., Anderson & Susan Cockayne. Clinical Chemistry-Concepts & Applications (2003).

E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio-Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006).

Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996).



APPLICATION ON PKL PPC 125 ANALYZER

CUSTOMER PARAMETER QC SCHEDULE REPORT STATISTICS MAINTENANCE RUN MONITOR EXIT	Test Parameter Profile Item-Test sequence Calculation item External parameter Reflex test																													
	Full name			BD			Item			BD			Text Code			XXX														
	Basic parameter Reference range Calibration																													
	Method					One-point linear					Primary filter					546					Secondary filter									
	Reagent blank										Decimal					2					Unit					Mg/dl				
	R1 Volume					277					R1 Position					XXX					Incubation time (s)					144 ¹⁰				
	R2 Volume					23					R2 Position					XXX					Incubation time (s)					X.XXX				
	Sample volume					60					Read time (s)					60					Max speed set					middle				
	Reagent suppliers paramedical Reagent barcode Lot number Expiry Date Lot number																													
	Add					Delete					Save					Printview					Print									

CUSTOMER
PARAMETER
QC
SCHEDULE
REPORT
STATISTICS
MAINTENANCE
RUN MONITOR
EXIT

Test Parameter
Profile
Item-Test sequence
Calculation item
External parameter
Reflex test

Full name:
Item:
Test Code:

Basic parameter
Reference range
Calibration

K =

Number of standards:
Calib Curve:
Calibration cup:
Cali. Hist.

1
Standard position:
Standard value:
Absorbance:

Lot number:
Expiry Date:

Add
Delete
Save
Printview
Print

XXX = Entered by the operator