



Kit per la determinazione della bilirubina totale nel siero o plasma Metodo colorimetrico Jendrassik-Grof modificato


Xn

R22 - Nocivo per ingestione

PRINCIPIO

La bilirubina totale reagisce in ambiente acido con l'acido solfanilico e, in presenza di specifici acceleranti di reazione, forma un azocomposto colorato (azobilirubina) la cui intensità di colore è proporzionale alla concentrazione di bilirubina totale nel campione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Acido solfanilico 9.98 mmol/l; acido citrico 0.95 mol/l; caffeina 0.49 mol/l;
 urea 2.6 mol/l; conservanti e tensioattivi non anionici

R2 Sodio nitrito 12.4 mmol/l

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con EDTA-Na₂.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati.
- Poiché la bilirubina è un pigmento fotosensibile, tenere i campioni lontani da fonti di luce e di calore. Processare immediatamente i campioni.
- Per campioni non limpidi e iperlipemici si consiglia di allestire un bianco campione.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti	fino a 1.2 mg/dl (17.1 µmol/l)
--------	--------------------------------

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 15-25 °C. Non congelare i reattivi.
- Dopo l'apertura, i flaconi **R1** e **R2** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se richiudi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.
- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1+ R2**): 21 giorni a 2-8 °C.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") aggiungere ogni 4 ml del reattivo **R1** 1 ml del reattivo **R2**. Preparare in questo modo un quantitativo pari al fabbisogno stimato tenendo presente la stabilità del reattivo di lavoro.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.100 a 570 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È 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.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Vedi i consigli di prudenza indicati accanto alla simbologia.

SMALTIMENTO RIFIUTI

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

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ: 570 (550-580) nm
 Temperatura di lavoro 37 °C
 Cammino ottico 1 cm
 Tipo di reazione "end point" (a punto finale)

- PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

REATTIVO DI LAVORO	BIANCO	CAMPIONE
1500 µl	1500 µl	1500 µl
ACQUA DISTILLATA	100 µl	--
CAMPIONE	--	100 µl

Agitare e poi incubare 5 min. a 37 °C. Leggere l'estinzione del campione (EC) e del bianco (EBC) contro acqua.

- PROCEDIMENTO BIREATTIVO "substrato starter"

REATTIVO R1	BIANCO	CAMPIONE
1000 µl	1000 µl	1000 µl
ACQUA DISTILLATA	80 µl	--
CAMPIONE	--	80 µl

Mescolare, incubare per 5 min, poi aggiungere:

REATTIVO R2	BIANCO	CAMPIONE
250 µl	250 µl	250 µl

Agitare e poi incubare 5 min. a 37 °C. Leggere l'estinzione del campione (EC) e del bianco (EBC) contro acqua.

CALCOLO

$$\text{Bilirubina totale [mg/dl]} = (\text{EC} - \text{EBC}) \times 14.5$$

$$[\mu\text{mol/l}] = (\text{EC} - \text{EBC}) \times 248$$

FATTORE DI CONVERSIONE

Bilirubina [mg/dl] x 17.0 = Bilirubina [µmol/l]

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 500 mg/dl.
 L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 1000 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare tra 0.05-25 mg/dl (0.85-425 µmol/l). Campioni superiori a 25 mg/dl devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA [mg/dl]	L = 0.43	N = 1.66	H = 3.55
D.S.	0.02	0.12	0.32
C.V.%	5.12	7.25	9.09

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA [mg/dl]	L = 0.84	N = 1.67	H = 4.09
D.S.	0.03	0.07	0.16
C.V.%	4.08	4.26	4.00

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 0.05 mg/dl (0.85 µmol/l).

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 1.00**

BIBLIOGRAFIA

Jendrassik, L., Gróf, P., Biochem. Z., 297, 81 (1938).
 Jakobs, D.S., Kasten, Jr. B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. 2nd Edition (1990).
 Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante



Kit for measurement of total bilirubin in serum or plasma
Colorimetric method Jendrassik-Gróf modified



Xn

R22 - Harmful if swallowed

PRINCIPLE

Total bilirubin reacts in acid environment with sulphaniilic acid and, in presence of specific reaction catalyzers, gives a coloured azocompound (azobilirubin) whose colour intensity is proportional to the total bilirubin concentration in the sample.

REAGENTS

R1 Sulphanilic acid 9.98 mmol/l; citric acid 0.95 mol/l; caffeine 0.49 mol/l;
urea 2.6 mol/l; preservatives and surface-active agents not anionic
R2 Nitrite sodium 12.4 mmol/l

SAMPLE

- Serum or EDTA-Na₂ plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis.
- Keep the samples far from light and heat because the bilirubin is a photosensitive pigment. Perform the samples as soon as possible.
- It's advisable to perform a blank sample for those samples which are hyperlipopemic and not clear.

REFERENCE VALUES

Adults	up to 1.2 mg/dl (17.1 µmol/l)
--------	-------------------------------

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 15-25°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1** and **R2** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1** + **R2**): 21 days at 2-8°C.

PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent ("sample-starter" procedure) add to every 4 ml of **R1** reagent, 1 ml of **R2** reagent. Prepare the amount for use according to the stability of working solution.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.100 at 570 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

Look at the caution advices indicated nearby the symbol.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength λ: 570 (550-580) nm
Working temperature 37°C
Optical path 1 cm
Reaction "end point"

- MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

	BLANK	SAMPLE
WORKING REAGENT	1500 µl	1500 µl
DISTILLED WATER	100 µl	--
SAMPLE	--	100 µl

Mix, then incubate for 5 min. at 37°C. Measure the final absorbance of sample (EC) and blank (EBC) against water.

- BIREAGENT PROCEDURE "substrate starter"

	BLANK	SAMPLE
REAGENT R1	1000 µl	1000 µl
DISTILLED WATER	80 µl	--
SAMPLE	--	80 µl

Mix, incubate for 5 min. and then add:

	BLANK	SAMPLE
REAGENT R2	250 µl	250 µl

Mix, then incubate for 5 min. at 37°C. Measure the final absorbance of sample (EC) and blank (EBC) against water.

CALCULATION

Total bilirubin [mg/dl] = (EC - EBC) x 14.5
[µmol/l] = (EC - EBC) x 248

CONVERSION FACTOR

Bilirubin [mg/dl] x 17.0 = Bilirubin [µmol/l]

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Glycerides do not interfere up to concentration of 500 mg/dl.
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 1000 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear between 0.05-25 mg/dl (0.85-425 µmol/l). Samples with values exceeding 25 mg/dl must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).
Results:

	[mg/dl]	L = 0.43	N = 1.66	H = 3.55
MEAN				
S.D.		0.02	0.12	0.32
C.V.%		5.12	7.25	9.09

"Inter Assay" precision (between-Run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.
Results:

	[mg/dl]	L = 0.84	N = 1.67	H = 4.09
MEAN				
S.D.		0.03	0.07	0.16
C.V.%		4.08	4.26	4.00

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 0.05 mg/dl (0.85 µmol/l).

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 1.00**

BIBLIOGRAPHY

Jendrassik, L., Gróf, P., Biochem. Z., 297, 81 (1938).
Jakobs, D.S., Kasten, Jr. B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. 2nd Edition (1990).
Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer