BioSystems

BILIRUBIN (DIRECT)

COD 21504 4 x 60 mL + 4 x 15 mL	COD 23504 1 x 60 mL + 1 x 15 mL
Soltanto per uso in vitro nel laboratorio clinico	

BILIRUBINA (DIRETTA)
DICLOROFENILDIAZONIO

USO PREVISTO

Reattivo per la misurazione della concentrazione di bilirubina diretta nel siero o plasma umano. I valori ottenuti sono una guida utile nella diagnosi e nel controllo dell'evoluzione dell'itterizia.
Questo reagente deve essere utilizzato negli analizzatori BA di BioSystems o in un altro analizzatore avente analoghe prestazioni.

SIGNIFICATO CLINICO

La bilirubina è un prodotto di scarto derivato dal gruppo emo della emoglobina degli eritrociti danneggiati o senescenti, che sono distutti nelle cellule reticoloendoteliali. Una volta prodotta, la bilirubina viene trasportata al fegato in associazione con l' albumina. La bilirubina nello epatocito si coniuga con l' acido glucoronico e viene escreta nella bile. Esistono una serie di malattie ereditate o acquisite che riguardano la produzione, captazione, metabolismo ed escrezione della bilirubina, che risultano in una iperbilirubinemia[1,2].
Si osserva iperbilirubinemia non coniugata in neonati (ittero fisiologico), in un aumento della distruzione di eritrociti (anemia emolitica, ematoma esteso), in eritropoiesi difettosa come in alcune malattie genetiche poco frequenti (sindrome di Gilbert, sindrome di Crigler-Najjar).
La iperbilirubinemia coniugata è associata ad una riduzione nell' escrezione di bile dovuta a malattie epatiche (epatiti o cirrosi) o ad una colestasi intra o extraepatica.
L' ittero è una manifestazione clinica della iperbilirubinemia, che consiste in una deposizione dei pigmenti biliari nella pelle, originando colorazione ambrata della pelle e mucose.
La diagnosi clinica non va eseguita sulla base degli esiti di una sola prova ma deve tener conto anche dei dati clinici e di laboratorio.

PRINCIPIO DEL METODO

La bilirubina diretta nel campione reagisce con il sale di 3,5-diclorofenildiazonio formando un complesso colorato che può essere misurata spettrofotometricamente a 535 nm[3]. La cetrimide solubilizza la bilirubina indiretta permettendone la reazione con la frazione diretta[4,5]. I termini "diretta" e "totale" si riferiscono alle caratteristiche di reazione in presenza o assenza di solubilizzanti (acceleratori). La bilirubina "diretta" e "indiretta" equivalgono solo approssimativamente alle frazioni coniugata e non coniugata.

INDICE

		COD 21504	COD 23504
A.	Reagente	4 x 60 mL	1 x 60 mL
B.	Reagente	4 x 15 mL	1 x 15 mL

COMPOSIZIONE

A. Reagente: acido fosforico 90 mmol/L, HEDTA 4,5 mmol/L, cloruro di sodio 50 mmol/L, pH 1,5.
INDICAZIONI DI PERICOLO: H314: provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. P260: non respirare polvere/fumi/gas/nebbia/vapori/aerosol. P280: indossare guanti/occhiali/maschera/indumenti protettivi. P303+P361+P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia. P305+P351+P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Rimuovere le lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

B. Reagente: 3,5-diclorofenildiazonio 1,5 mmol/L.
INDICAZIONI DI PERICOLO: H314: provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. P260: non respirare polvere/fumi/gas/nebbia/vapori/aerosol. P280: indossare guanti/occhiali/maschera/indumenti protettivi. P303+P361+P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia. P305+P351+P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Rimuovere le lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Per ulteriori avvertenze e precauzioni, fare riferimento alla scheda di sicurezza (SDS) del prodotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare a 2-8ºC.
Una volta aperti, i componenti sono stabili fino alla data di scadenza di cui all'etichetta se conservati ben chiusi ed evitandone la contaminazione durante l'uso.
Stabilità di cui alla tabella: I reagenti aperti e conservati nello scomparto refrigerato dell'analizzatore sono stabili 2 mesi.
Indicazioni di deterioramento: Assorbanza dello spazio superiore il limite di cui ai "Parametri di prova".

ALTRI MATERIALI NECESSARI (NON IN DOTAZIONE)

Calibratore di Biochimica (BioSystems cod. 18011) o Calibratore di Biochimica Umano (BioSystems cod. 18044).

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso.

CAMPIONI

Siero e plasma prelevati mediante procedimenti standard. L'eparina o EDTA devono essere utilizzati come anticoagulante.
La bilirubina nel siero e plasma è stabile 2 giorni a 20-25ºC, 7 giorni a 4-8ºC è 6 mesi a −20ºC se protetta dalla luce[6].

CALIBRAZIONE

Ogni giorno effettuare un bianco di reagente e una calibrazione almeno ogni 2 mesi, a sostituzione avvenuta del lotto di reagente o come previsto dalle procedure di controllo della qualità.

CONTROLLO QUALITÀ

Si raccomanda l'uso di Siero di Controllo Titolato livello I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) per la verifica dell'esattezza della procedura di misurazione.
Ogni laboratorio è tenuto a definire un programma di controllo interno della qualità nonché procedure correttive se gli esiti dei controlli non rientrano nei limiti di accettabilità.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti [7]:

Diretta	Fino 0,4 mg/dL = 6,8 μmol/L

Questi valori si danno unicamente a titolo orientativo; si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di riferimento.

CARATTERISTICHE METROLOGICHE

Le caratteristiche metrologiche di seguito illustrate sono state ottenute con un analizzatore BA400 seguendo le linee guida del Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI.
- Limite di rilevabilità: 0,09 mg/dL = 1,60 μmol/L.
- Limite di linearità: 15 mg/dL = 257 μmol/L.
- Precisione:

Concentrazione media	Ripetibilità (CV)	In laboratorio (CV)
0,608 mg/dL = 10,4 μmol/L	4,3 %	5,3 %
1,68 mg/dL = 28,8 μmol/L	2,0 %	2,9 %

- Veridicità: i risultati ottenuti con questi reagenti non hanno evidenziato differenze sistematiche significative se raffrontati con reagenti di riferimento. I dati degli esperimenti comparativi sono disponibili su richiesta.

LIMITI DELLA PROCEDURA

- Interferenze: L'emolisi (emoglobina fino a 25 mg/dL) e la lipemia (trigliceridi fino a 1300 mg/dL) interferire. Eventuali interferenze da altri farmaci e sostanze[8].
- Occasionalmente, in quei campioni in cui la concentrazione di bilirubina diretta e totale è molto simile, si possono ottenere valori più alti per la bilirubina diretta che per la bilirubina totale.

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Thaler M, Luppa PB and Schlebusch H. Bilirubin measurement – an updated survey. J Lab Med 2008; 32:1-9.
4. Zoppi F, Peracino A, Fenili D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giorn It Chim Cl 1976; 1:343-359.
5. Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
6. World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.
7. Larson DL.Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques.Elsevier, 2017:358.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

PARAMETRI DELLA PROVA

Reagenti utilizzabili in gran parte degli analizzatori automatici. Le apposite istruzioni di applicazione per molti di loro sono disponibili su richiesta.
R1: utilizzare il reagente A.
R2: utilizzare il reagente B.

	BA200	BA400
GENERALE		
Denominazione	**BILIRUBIN DIRECT**	**BILIRUBIN DIRECT**
breve Denominazione	D-BIL	D-BIL
Tipo di campione	siero / plasma	siero / plasma
Modo analisi	differenziale bireagente	differenziale bireagente
Unità	mg/dL	mg/dL
decimali	2	2
Tipo reazione	crescente	crescente
PROCEDIMENTO		
Modo lettura	bicromatica	bicromatica
Filtro principale	535	535
Filtro di riferimento	670	670
Campione	14	14
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Lettura 1 (ciclo)	16	35
Lettura 2 (ciclo)	20	39
Fattore prediluizione	-	-
CALIBRAZIONE E BIANCO		
Tipo di bianco	acqua distillata	acqua distillata
Modo di calibrazione	calibratore sperimentale	calibratore sperimentale
Numero di calibratori	1	1
Curva di calibrazione	-	-
OPZIONI		
Limite abs bianco	0,040	0,040
Limite bianco cinetico	-	-
Limite linearità	15	15
Substrato esausto	-	-

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)
www.biosystems.global