

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

| | Codice | Composizione |
|---------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------|
| OPEN KONELAB INDIKO | REF B75182501 | n° 4 flaconi x 60 mL (R.A) n° 2 flaconi x 9 mL (R.B) |
| | REF B75182578 | n° 20 flaconi x 10 mL (R.A) n° 1 flaconi x 15 mL (R.B) |

DESTINAZIONE D'USO

Determinazione quantitativa in vitro della concentrazione di Bilirubina Totale nel siero e nel plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. SOLO PER USO PROFESSIONALE.

SIGNIFICATO CLINICO

L'organismo umano produce quotidianamente da 250 a 300 mg di bilirubina totale, di questa circa l'85% proviene dalla frazione eme dell'emoglobina formata dalla distruzione dei globuli rossi all'interno delle cellule reticolo endoteliali del fegato, della milza e del midollo osseo. Il restante 15% proviene dai precursori dei globuli rossi e dal catabolismo di altre proteine come ad esempio la mioglobina.

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo Winsten-Cehelyk. L'acido solfanilico reagisce con il nitrito di sodio formando l'acido solfanilico diazotato. In presenza di detergente, la bilirubina totale reagisce con l'acido solfanilico diazotato formando azobilirubina. Il colore formato è direttamente proporzionale alla bilirubina totale presente nel campione.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 15-25 °C

Conservati chiusi alla temperatura indicata evitando la luce diretta, l'evaporazione e contaminazione di qualsiasi natura i reattivi integri sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta.

Concentrazioni

| Reagente A: | | |  *GHS05 |
|-------------------|-------|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Conc. | U.M. | |
| Acido Sulfanilico | 16,2 | mmol/L | |
| Acido Cloridrico | 27,0 | mmol/L | |
| Detergente | 25,0 | g/L | |
| Reagente B: | | | |
| Nitrito di Sodio | 600 | mmol/L | |

* Avvertenza: PERICOLO

Contiene Acido solfanilico (CAS 121-57-3): /Può provocare una reazione allergica

H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

P303+P361+P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P321 - Trattamento specifico (vedere su questa etichetta).

P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato.

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'Autorità Competente dello Stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi relativi ai singoli stati. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Sieri di controllo a titolo noto contenenti Bilirubina Totale sono commercialmente reperibili per il controllo qualità, correlati di certificati di analisi. Sono disponibili i sieri di controllo normali e patologici Sclavo Diagnostics: Clinicontrol N 5x5mL cod. B35181700 e Clinicontrol A 5x5 mL cod. B35181701. I valori ottenuti devono essere contenuti entro il range di accettabilità.

Calibrazione

Per la calibrazione utilizzare il kit Siero di calibrazione Sclavo codice B35181702.

Tracciabilità

La tracciabilità della Bilirubina Totale è visibile nell'insero della confezione del siero di calibrazione.

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Utilizzare campioni di siero o plasma freschi privi di emolisi. Conservare al riparo della luce. I campioni devono essere analizzati entro 2 ore se conservati a temperatura ambiente o 12 ore se conservati a 2-8°C. Se congelati fra - 15°C e - 20°C i campioni sono stabili per 3 - 4 mesi.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Aggiungere 1 volume di Reagente B a 100 volumi di Reagente A, quindi miscelare delicatamente. Il reagente così preparato è pronto all'uso, e stabile 15 giorni se mantenuto chiuso ad una temperatura di 2-8°C al riparo dalla luce diretta. Una leggera variazione nella colorazione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test.

Attenzione: il reagente deve essere conservato al riparo dalla luce, in quanto può sviluppare una colorazione giallo-marrone, che comunque non interferisce con la reazione.

Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R1/R2/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko®. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dall'utente.

METODO MANUALE

Il kit, nel formato Open, può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizioni di reazione

| | |
|------------------------------|--------------------------|
| Lunghezza d'onda (primaria): | 540 nm |
| Temperatura: | 37°C |
| Reazione | Endpoint (in incremento) |

Tecnica – Monoreattivo

-Portare i reattivi alla temperatura di reazione e operare al riparo dalla luce diretta.

| | U.M. | Bianco | Siero di Calib. | Campione |
|-----------------|------|--------|-----------------|----------|
| Reagente A+B | µL | 1000 | 1000 | 1000 |
| Siero di Calib. | µL | - | 50 | - |
| Campione | µL | - | - | 50 |
| Bianco | µL | 50 | - | - |

Miscelare con delicatezza quindi incubare a 37°C per 10 minuti.

Letture

Leggere le assorbanze a 540 nm del campione e del Calibratore, sottraendo l'assorbanza del bianco reagente. Il colore finale è stabile 1 ora al riparo della luce diretta.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente senza alterazione dei risultati.

Risultati:

Metodo Manuale

Calcolo della concentrazione della Bilirubina Totale:

$$\frac{\text{D.O. Campione}}{\text{D.O. Siero di Calibrazione}} \times \text{Concentrazione Calibratore} = \text{Bilirubina Totale mg/dL}$$



Automazione

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore in base alla retta di calibrazione. L'analizzatore esegue automaticamente la calibrazione nel rispetto del protocollo del metodo. La retta di calibrazione viene calcolata automaticamente dai singoli strumenti.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Siero o plasma: 0,1 – 1,2 mg/dL (1,7 - 21 µmol/L).

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori normali in funzione della popolazione su cui opera

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Linearità

La reazione è lineare sino a 23,6 mg/dL di Bilirubina Totale nel campione. Per concentrazioni superiori ripetere il test sul campione diluito in soluzione fisiologica quindi moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Esattezza

Sieri di controllo commerciali sono stati analizzati con il kit in oggetto seguendo le linee guida del protocollo CLSI. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva.

| Livello | Replicati | Media (mg/dL) | DS | CV% | Recovery |
|---------|-----------|---------------|-------|------|----------|
| Basso | 5 | 0,7 | 0,055 | 9,78 | 88,7% |
| Alto | 5 | 7,64 | 0,045 | 0,91 | 102,4% |

Interferenze

| Interferente | Limite |
|--------------|-----------|
| Emoglobina | 500 mg/dL |

Precisione del metodo

Prove di precisione eseguite con sieri di controllo su analizzatori automatici.

| Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità | | | | | |
|--------------------------------------------------------------|-------|-------|------|----------|----|
| Range | U.M. | Media | S.D. | C.V. (%) | N° |
| Basso | mg/dL | 1,69 | 0,02 | 1,18 | 30 |
| Alto | mg/dL | 5,28 | 0,09 | 1,70 | 30 |
| Precisione totale (Within-lab precision) | | | | | |
| Range | U.M. | Media | S.D. | C.V. (%) | N° |
| Basso | mg/dL | 1,43 | 0,02 | 1,54 | 20 |
| Alto | mg/dL | 5,51 | 0,17 | 3,21 | 20 |

Limite di sensibilità

Il limite di Sensibilità è stato misurato analizzando diluizioni scalari di un siero concentrato. Alle condizioni stabilite per questo test la più bassa concentrazione rilevabile è di 0,03 mg/dL di Bilirubina Totale.

Confronto tra metodi

Il metodo è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente, analizzando 61 sieri umani. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

| Parametro | Stima |
|-------------------------|--------|
| Intercetta | -0.216 |
| Pendenza | 1.075 |
| Coeff. Correlazione (R) | 0.99 |

| Simboli utilizzati in IFU e Packaging | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  Dispositivo medico diagnostico in vitro |  Fabbricante |
|  Numero di catalogo |  Istruzioni per l'uso |
|  Numero del lotto |  Temperatura di conservazione |
|  Data di scadenza | |

BIBLIOGRAFIA

1. **Malloy HT, Evelyn KA.** (1937) J Biol Chem; 119: 481-490.
2. **Colombo JP, Peheim E, Kyburz S, Hoffmann JP.** (1974) A new accelerator for the determination of total bilirubin in plasma. Clin Chim Acta 1974; 51: 217-219.
3. **Winsten S, Cehelyk B.** (1969) A rapid diazo technique for measuring total bilirubin. Clin Chim Acta; 25: 441-446.
4. **Martinek RG.** (1966). Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim Acta; 13: 161-170.
5. **Annino JS.** Clinical Chemistry: Principles and Procedures. Little, Brown and Company, Boston-Toronto 1960; 198-203.
6. **Doumas BT, Perry BW, Sasse EA, Straumfjord JV.** (1973). Standardization in bilirubin assays: evaluation of selected methods and stability of bilirubin solutions. Clin Chem 1973; 19:984-993.
7. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness;** Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2.
8. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2.
9. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3.
10. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition – EP17
11. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Interference Testing in Clinical Chemistry, – Third Edition. - EP07.
12. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition - EP06.

| REVISIONE | DATA | MOTIVO DELLA REVISIONE |
|-----------|---------|-----------------------------|
| Rev.B | 05/2025 | Eliminazione linea Chemilab |

