

Gesamtbilirubin-Reagenz

Säure Diazo Methode

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	:	bis Verfallsdatum bei 2-25°C
Linearer Bereich	:	bis zu 340 µmol/L (20 mg/dL)
Probe Typ	:	Serum
Methode	:	Endpunkt
Reagenz-Vorbereitung	:	Natriumnitrit (NIT) im Verhältnis von 1:50 hinzufügen.

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz ist für die quantitative in-vitro-Bestimmung von Gesamtbilirubin in menschlichem Serum bestimmt.

KLINISCHE BEDEUTUNG

Rote Blutkörperchen werden am Ende ihres Lebens im Blutkreislauf im retikuloendothelialen System, hauptsächlich der Milz, abgebaut. Das resultierende Häm wird nach der Entfernung von Eisen zu Bilirubin umgewandelt. Dieser Prozess macht etwa 80 Prozent des täglich gebildeten Bilirubin (500 µmol (300 mg)) aus. Zu den anderen Entstehungsquellen von Bilirubin gehören der Abbau von Myoglobin und Zytochromen, sowie der Katabolismus unreifer roter Blutkörperchen im Knochenmark.

Nach der Bildung wird Bilirubin an Albumin gebunden zur Leber transportiert, da es wasserunlöslich ist. Dieser Teil des Bilirubins wird als indirekt oder unkonjugiert bezeichnet. In der Leber wird Bilirubin zu Glukuronsäure (Mono- und Diglukoronide) konjugiert, und es entsteht mit dem Enzym UDP-Glucuronyltransferase konjugiertes Bilirubin. Konjugiertes bzw. direktes Bilirubin wird über den Gallentrakt in den Darm ausgeschieden, wo es von Bakterien in eine Gruppe von Produkten mit dem Sammelbegriff Stercobilinogen metabolisiert wird. Die Eliminierung ist nahezu vollständig und Plasmawerte sind gewöhnlich unbedeutend.

Gesamtbilirubin ist die Summe der unkonjugierten und konjugierten Anteile. Gesamtbilirubin ist bei Krankheiten erhöht, die eine Störung des Gallentrakts verursachen, Hepatitis, Zirrhose, in hämolytischen Störungen und einer Reihe von angeborenen Enzymdefizienzen.

Indirektes Bilirubin wird durch prähepatische Ursachen erhöht, wie z.B. hämolytische Störungen oder Lebererkrankungen, was zu Problemen beim Eintritt, Transport oder Konjugierung innerhalb der Leber führt.

Die Beobachtung von Bilirubin bei Neugeborenen, insbesondere bei Frühgeburten, ist von besonderer Bedeutung. Da die hepatische Verarbeitung von Bilirubin in solchen Fällen oft unausgereift ist, ist das Auftreten von Gelbsucht aufgrund einer Erhöhung von unkonjugiertem Bilirubin weit verbreitet. Unkonjugiertes Bilirubin kann, wenn es nicht an Albumin gebunden ist, die Blut-Gehirn-Grenze leichter durchbrechen und die Gefahr von Gehirnschäden erhöhen.¹

METHODIK

Die meisten derzeit verwendeten Methoden zum Testen von Bilirubin basieren auf der Reaktion zwischen Bilirubin und diazotisierten Sulfanilsäurelösungen. In einer wässrigen Lösung reagiert nur das direkte (konjugierte) Bilirubin auf diese Weise.

Für die Schätzung des Gesamtbilirubin muss also das unkonjugierte Bilirubin von Albumin gelöst und wasserlöslich gemacht werden. Dies wird erreicht, indem ein Beschleuniger oder Lösungsmittel hinzugefügt wird. In der oft verwendeten Malloy-Evelyn² Methode wird Methanol eingesetzt, während Koffein/Natrium-Benzolat für die Jendrassik-Grof³ Methode verwendet wird. Das Gesamtbilirubin-Reagenz beruht auf einer Modifizierung der Pearlman and Lee⁴ Methode, bei der ein Tensid als Lösungsmittel verwendet wird. Konjugiertes und lösliches unkonjugiertes Bilirubin reagieren mit diazotisierter Sulfansäure, wobei ein saures Azobilirubin entsteht, dessen Absorptionsvermögen zur Bilirubinkonzentration in der Probe proportional ist und bei 550 nm gemessen werden kann. Für bichromatische Analysegeräte sollte die Lesung des Leerwerts bei 660nm erfolgen.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
Gesamtbilirubin-Reagenz	
Tensid	1%
HCl	100 mmol/L
Sulfanilsäure	5 mmol/L
Natriumnitrit-Reagenz	
Natriumnitrit	144 mmol/L

WARNUNG: Pipette NICHT in den Mund nehmen. Falls verschüttet, die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser abwaschen. Für weitere

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

EC REP	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
IVD	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
LOT	Batch Code / Losnummer		VORSICHT: Siehe Benutzungsvorschriften
REF	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften		Xn - Gesundheitsschädigend
	Xi - Reizend	NIT	Natriumnitrit-Reagenz
REAG	Gesamtbilirubin-Reagenz		

Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel Gesamtbilirubin-Reagenz.

Gesamtbilirubin-Reagenz: Reizend!

R38	Reizt die Haut.
R41	Gefahr ernster Augenschäden.
S24/25	Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
S26	Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

Natriumnitrit-Reagenz: Gesundheitsschädlich!

R22	Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
S45	Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).

REAGENZVORBEREITUNG

Dem Gesamtbilirubin-Reagenz im Verhältnis von 1:50 Natriumnitritreagenz hinzufügen. Zum Beispiel werden 10mL direktem Bilirubinreagenz 0,2mL Natriumnitrit hinzugefügt (Dies entspricht ungefähr 6 Tropfen – es wird jedoch empfohlen, dass dies von der testenden Person geprüft wird). Für Anweisungen zu Proben-Blindproben nehmen Sie bitte auf die entsprechende Instrumentenanwendung Bezug.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Das Reagenz ist bei Lagerung von 2-25°C bis zum auf der Flasche und dem Schachteletikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Aktives Reagenz:

Aktives Reagenz ist bei 2-8°C wenigstens 21 Tage lang stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung;
- Reagenz-Absorptionsvermögen > 0,1 AU bei 550nm; und/oder
- Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Serum: nicht-hemolisiertes Serum verwenden.

Aufbewahrung: Proben sollten vor grellem Licht geschützt werden, da Bilirubin photolabil ist. Proben können gekühlt 3 Tage lang aufbewahrt werden.³

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE AUSTRÜSTUNG

- Falls erforderlich, Pipetten zur akkuraten Mengenernahme.
- Ein klinisches Chemie-Analysegerät, das eine konstante Temperatur (30/37°C) aufrechterhalten und Absorption bei 550 nm messen kann.
- Analyse-spezifische Materialien, z.B.: Probebecher.
- Normales und abnormales getestetes Kontrollmaterial.
- Kalibrator oder geeigneter wässriger Gesamtbilirubin-Standard.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Test Parameter werden empfohlen: Einzelne Anwendungen des Instruments können auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhalten werden.

TEST PARAMETER

Temperatur	30/37°C
Primäre Wellenlänge	550 nm
Sekundäre Wellenlänge	660 nm
Testtyp	Endpunkt
Richtung	Zunahme
Probe: Reagenz-Verhältnis	1 : 20
z.B.: Probemenge	10 µL
Reagenzmenge	200 µL
Inkubationszeit	600 Sekunden
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(550nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,1 AU
Linearität	340 µmol/L (20 mg/dL)
Analytische Sensitivität	2,5 ΔmAbs pro µmol/L
(550nm, 1cm Lichtweg)	43 ΔmAbs pro mg/dL

BERECHNUNGEN

Die Ergebnisse werden, gewöhnlich vom Instrument automatisch, wie folgt berechnet:

$$\text{Gesamtbilirubin} = \frac{\text{Absorption von Unbekannt}}{\text{Absorption von Kalibrator}} \times \text{Kalibratorwert}$$

Beispiel:

Absorption von Kalibrator = 0,24
Absorption von Unbekannt = 0,13
Kalibratorwert = 95 µmol/L (5,6 mg/dL)

$$\text{Gesamtbilirubin} = \frac{0,13}{0,24} \times 95 = 52 \mu\text{mol/L}$$

$$\text{Gesamtbilirubin} = \frac{0,13}{0,24} \times 5,6 = 3,0 \text{ mg/dL}$$

ANMERKUNGEN

1. Proben mit Werten über 340 µmol/L (20 mg/dL) sollten verdünnt und erneut getestet werden. Die Ergebnisse sind mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.
2. Umrechnung: µmol/L x 0,0585 = mg/dL

KALIBRIERUNG

Die Kalibrierung ist erforderlich. Es wird ein auf wässriger Lösung bzw. Serum basierender Kalibrator, der über einen zugeordneten, auf einen Primärstandard (z.B. NIST oder IRMM) zurück zu führenden Wert verfügt, empfohlen. Bezüglich der Häufigkeit der Kalibrierung für automatische Instrumente verweisen wir auf die Spezifikationen des Instrumentherstellers. Es ist zu beachten, dass die Stabilität der Kalibrierung sowohl von der optimalen Leistung des Instruments als auch von der Verwendung gemäß den unter Stabilität und Lagerung beschriebenen Empfehlungen für die Handhabung der Reagenzien abhängt. Für die folgenden Fälle empfehlen wir erneute Kalibrierung des Instruments:

- Neue Losnummer
- Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Falls die Kontrollwerte außerhalb des Normalbereichs liegen und das Auswechseln des Kontrollgefäßes nicht zur Lösung des Problems führt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine adäquate Qualitätskontrolle zu gewährleisten, sollten normale und abnormale Kontrollen mit getesteten Werten als unbekannt Proben getestet werden:-

- Mindestens einmal täglich oder wie durch das Labor festgelegt.
- Wenn eine neue Reagenzflasche verwendet wird.
- Nach einer Wartung oder dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Mit jeder Kalibrierung.

Kontrollergebnisse, die höher oder niedriger als die festgelegten Grenzwerte sind, deuten an, dass der Test aus der Kontrolle geraten ist. In solchen Situationen werden die folgenden Korrekturen empfohlen:-

- Die selben Kontrollen wiederholen.
- Falls die wiederholten Kontrollergebnisse außerhalb der Grenzwerte liegen, frisches Kontrollserum zubereiten und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse nach wie vor nicht stimmen, mit frischem Kalibrator rekalisieren und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse immer noch falsch sind, mit frischem Reagenz kalibrieren und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse immer noch außer Kontrolle sind, die Technische Unterstützung oder Ihrer lokalen Verkäufer kontaktieren.

BESCHRÄNKUNGEN

1. Es wurden Studien zur Bestimmung der Interferenz von Lipämie durchgeführt, und die folgenden Ergebnisse entstanden:
Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 3,2 mmol/L (280 mg/dL).
2. Hämolyse sollte vermieden werden, da es hier mit Diazomethoden zu falschen niedrigen Werten kommt. ⁵
3. Young DS[®] hat eine umfassende Liste von Arzneien und Substanzen veröffentlicht, welche diesen Test beeinträchtigen können.

ERWARTETE WERTE⁵

Erwachsene und Kleinkinder über 1 Monat:
3,4 - 17,1 µmol/L (0,2 - 1,0 mg/dL)

Frühgeborene Neugeborene:
Bis zu 24 Stunden 17 - 137 µmol/L (1 - 8 mg/dL)
Bis zu 48 Stunden 103 - 205 µmol/L (6 - 12 mg/dL)
Tag 3 - 5 171 - 239 µmol/L (10 - 14 mg/dL)

Voll entwickelte Neugeborene:

Bis zu 24 Stunden 34 - 103 µmol/L (2 - 6 mg/dL)
Bis zu 48 Stunden 103 - 171 µmol/L (6 - 10 mg/dL)
Tag 3 - 5 68 - 137 µmol/L (4 - 8 mg/dL)

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.⁷

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden mithilfe des Gesamtbilirubin-Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Analysegerät erhalten. Benutzer sollten die Produktleistung für ihr spezifisches Analysegerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Die Ungenauigkeit wurde mit zwei Werten kommerzieller Kontrollen und im Anschluss an die NCCLS EP5-T Prozedur ermittelt.⁸

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Proben	80	80
Durchschnitt (µmol/L / mg/dL)	23 / 1,33	46 / 2,71
SD (µmol/L / mg/dL)	0,5 / 0,03	0,7 / 0,04
CV (%)	2,6	1,5
Insgesamt:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Proben	80	80
Durchschnitt (µmol/L / mg/dL)	23 / 1,33	46 / 2,71
SD (µmol/L / mg/dL)	1,0 / 0,06	2,4 / 0,14
CV (%)	4,8	5,0

METHODENVERGLEICH

Es wurden mit einem ähnlichen, im Handel erhältlichen Gesamtbilirubin-Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serumproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mittels der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Anzahl der Probenpaare	929
Bereich der Probenergebnisse	0,5-485 µmol/L (0,03-28 mg/dL)
Durchschnitt der Bezugsmethoden-Ergebnisse	21 µmol/L (1,2 mg/dL)
Durchschnitt der Gesamtbilirubin-Ergebnisse	21 µmol/L (1,2 mg/dL)
Neigung	1,10
Intercept	-2,09 µmol/L (-0,12 mg/dL)
Korrelationskoeffizient	1,00

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 340 µmol/L (20 mg/dL).


ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung liegt die Sensitivität dieses Tests bei 2,5 ΔmAbs pro µmol/L oder 43 ΔmAbs pro mg/dL (1cm Lichtweg, 550nm).

LITERATURHINWEISE

1. Zilva JF, Pannall PR. "Liver Disease and Gall Stones" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke 1979; Chap XIII; 286-8.
2. Malloy HT, Evelyn KA. J Biol Chem 1937; 119:481-90.
3. Jendrassik L, Grof B. Biochem Zeit 1938; 297:81-9.
4. Pearlman FC, Lee RT. Clin Chem 1974; 20:447-53.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition. Burtis CS and Ashwood ER (Eds), WB Saunders Company, 1994.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition. AACC Press, 1990.
7. Watchel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine, 1995; 26: 593-7.
8. National Committee for Clinical Chemistry Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.	REAG	NIT
TR32321	2 x 125 mL	1 x 8 mL
TR32326	2 x 250 mL	2 x 10 mL
TR32398	2 x 500 mL	1 x 20 mL
TL32301 (ILab 600)	6 x 100 mL	1 x 20 mL
TH32301 (Hitachi)	4 x 50 mL	1 x 10 mL
TY32301 (Hitachi)	4 x 50 mL	1 x 10 mL