

Direktes Bilirubin-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	:	Gebrauchsfertig geliefert

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz ist für die quantitative in-vitro-Bestimmung von Direktes Bilirubin 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 Gallenkanal 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.

Dieses direkte Bilirubin-Reagenz verwendet eine Säure-Diazo-Methode. Konjugiertes Bilirubin reagiert mit diazotisierter Sulfanilsäure, wobei ein saures Azobilirubin entsteht, dessen Absorptionsvermögen proportional zur Konzentration von direktem Bilirubin in der Probe ist und bei 550nm gemessen werden kann. Für bichromatische Analysegeräte sollte die Lesung des Leerwerts bei 660nm erfolgen.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
Direktes Bilirubin-Reagenz	
HCl	100 mmol/L
Sulfanilsäure	10 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 Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel Direktes Bilirubin-Reagenz.

Direktes Bilirubin-Reagenz: Reizend!

R38	Reizt die Haut.
R41	Gefahr ernster Augenschäden.

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

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

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

Testreagenz:

Dem direkten Bilirubin-Reagenz im Verhältnis von 1:100 Natriumnitritreagenz hinzufügen. Zum Beispiel werden 10mL direktem Bilirubinreagenz 0,1mL Natriumnitrit hinzugefügt (Dies entspricht ungefähr 3 Tropfen – es wird jedoch empfohlen, dass dies von der testenden Person geprüft wird).

Reagenz für Leerwert:

Direktes Bilirubinreagenz wie geliefert verwenden.

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-hemolysiertes Serum verwenden.

Aufbewahrung: Proben sollten vor grellem Licht geschützt werden, da Bilirubin photolabil ist. Proben können gekühlt 3 Tage lang aufbewahrt werden.²

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 Direktes Bilirubin-Standard.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Es wird empfohlen, dass für jede Probe eine Leerwertprobe durchgeführt wird. Eine Leerwertprobe kann einfach durch die Verwendung von direktem Bilirubinreagenz ohne Zusatz von Natriumnitrit durchgeführt werden.

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	300 Sekunden
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(550nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,1 AU
Linearität	340 µmol/L (20 mg/dL)

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:

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

Beispiel:

Absorption von Kalibrator (Test) = 0,038
Absorption von Kalibrator (Leerwert) = 0,003

Absorption von Unbekannt (Test) = 0,029
Absorption von Unbekannt (Leerwert) = 0,01
Kalibratorwert = 15 μmol/L (0,88 mg/dL)

Absorption von Kalibrator = 0,038 - 0,003 = 0,035
Absorption von Unbekannt = 0,029 - 0,01 = 0,019

$$\text{Direktes Bilirubin} = \frac{0,019}{0,035} \times 15 = 8,1 \mu\text{mol/L}$$

$$\text{Direktes Bilirubin} = \frac{0,019}{0,035} \times 0,88 = 0,48 \text{ mg/dL}$$

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. Ein geeigneter wässriger Standard oder serumgestützter Kalibrator wird empfohlen. Bezüglich der Kalibrierungshäufigkeit auf automatischen Instrumenten nehmen Sie auf die instrumentspezifischen Herstellerangaben Bezug.

Die Kalibrierungsstabilität hängt jedoch von der optimalen Instrumentleistung und der Verwendung von gemäß den Anweisungen im Abschnitt über Stabilität und Lagerung dieser Packungsbeilage gelagerten Reagenzien ab. Die erneute Kalibrierung wird in den folgenden Fällen empfohlen:-

- Die Losnummer des Reagenz ändert sich.
- Nach einer Wartung oder dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Die Kontrollwerte haben sich verschoben oder fallen außerhalb des Bereichs und eine neue Kontrollphiole behebt das Problem nicht.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

- Wenigstens alle acht Stunden.
 - Wenn eine neue Reagenzflasche verwendet wird.
 - Nach einer Wartung oder dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- 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 Hämoglobin und Lipämie durchgeführt, und die folgenden Ergebnisse entstanden:

Hämoglobin: Die Verwendung hämolysierter Proben sollte vermieden

werden.

Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 8,8 mmol/L (780 mg/dL).

2. Young DS³ hat eine umfassende Liste von Arzneien und Substanzen veröffentlicht, welche diesen Test beeinträchtigen können.

ERWARTETE WERTE²

Erwachsene und Kleinkinder (>1 Monat alt): 0-3 μmol/L (> 0,2 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.⁴

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden mithilfe des Direktes Bilirubin-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.⁵

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Proben	80	80
Durchschnitt (μmol/L / mg/dL)	20,5 / 1,2	35,9 / 2,1
SD (μmol/L / mg/dL)	1,9 / 0,11	1,9 / 0,11
CV (%)	<1	2,9

Insgesamt:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Proben	80	80
Durchschnitt (μmol/L / mg/dL)	20,5 / 1,2	35,9 / 2,1
SD (μmol/L / mg/dL)	1,9 / 0,11	1,9 / 0,11
CV (%)	8,7	5,2

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Es wurden mit einem ähnlichen, im Handel erhältlichen Direktes Bilirubin-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	51
Bereich der Probenergebnisse	5-488 μmol/L (0,3-28,6 mg/dL)
Durchschnitt der Bezugsmethoden-Ergebnisse	107 μmol/L (6,3 mg/dL)
Durchschnitt der Direktes Bilirubin-Ergebnisse	111 μmol/L (6,5 mg/dL)
Neigung	0,96
Intercept	8,5 μmol/L (0,5 mg/dL)
Korrelationskoeffizient	0,99

LINEARITÄT


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

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. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition. Burtis CS and Ashwood ER (Eds), WB Saunders Company, 1994.
3. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition. AACC Press, 1990.
4. Watchel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine, 1995; 26: 593-7.
5. National Committee for Clinical Chemistry Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part 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



© 2009 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.

REF	Nachbestellinformation	
Katalog Nr.	REAG	NIT
TR33321	2 x 125 mL	1 x 10 mL
TR33326	2 x 250 mL	1 x 10 mL
TR33398	2 x 500 mL	1 x 20 mL
1225-200H (Hitachi)	4 x 50 mL	1 x 8 mL
TL33301 (iLab 600)	6 x 100 mL	1 x 20 mL