DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch-technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
IZ NOE-Sued, Hondastrasse, Objekt M55, 2351 Wr. Neudorf, Austria
Phone: +43 (0) 2236 660910-0, Fax: +43 (0) 2236 660910-30, e-mail: office@dialab.at

Bilirubin Total, Jendrassik Grof

(de) Deutsch

REF	Inhalt							
103107B	1	x	1	L R1	+ 1 x	0.04	L R2
102001	5	x	100	mL R1	+ 1 x	20	mL R2
102011	5	x	50	mL R1	+ 1 x	10	mL R2
116021	5	x	25	mL R1	+ 1 x	5	mL R2

Nur für den professionellen in-vitro diagnostischen Gebrauch.

VERWENDUNGSZWECK

Diagnostisches Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von totalem Bilirubin in humanem Serum oder Plasma auf fotometrischen Systemen.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Bilirubin ist ein Abbauprodukt von Hämoglobin. Freies, unkonjugiertes Bilirubin ist extrem unpolar und in Wasser fast unlöslich, deshalb bildet es zum Transport im Blut von der Milz zur Leber einen Komplex mit Albumin. In der Leber bindet Bilirubin an Glukuronsäure, die entstehende wasserlösliche Bilirubin-Glukuronsäure wird über die Gallenwege ausgeschieden. Hyperbilirubinämie kann durch gesteigerte Bilirubin-Produktion aufgrund von Hämolyse (prähepatischer Ikterus), durch Leberparenchymschaden (hepatischer Ikterus) oder durch Verschluss der Gallenwege (posthepatischer Ikterus) verursacht werden. Eine in der Bevölkerung häufig vorkommende chronische kongenitale (vor allem unkonjugierte) Hyperbilirubinämie ist das Gilbert's Syndrom. Hohe Bilirubinwerte können bei 60 – 70 % aller Neugeborenen aufgrund eines erhöhten postpartalen Erythrozytenabbaus und verzögerter Funktion der Enzyme für den Bilirubin-Abbau beobachtet werden. Gängige Labormethoden zur Bilirubinbestimmung messen entweder Gesamtbilirubin oder direktes Bilirubin, wobei bei der Bestimmung des direkten Bilirubins hauptsächlich das konjugierte, wasserlösliche Bilirubin erfasst wird. Die Höhe des unkonjugierten Bilirubins kann daher aus der Differenz zwischen Gesamtbilirubin und direktem Bilirubin abgeschätzt werden[1,2].

TESTPRINZIP

Bilirubin wird dann in der Leber zu Bilirubin-Monoglucuronid und Bilirubin-Diglucuronid umgewandelt. Die Reaktion von Bilirubin mit diazotierter Sulfanilsäure wurde erstmals von Ehrlich[3] beschrieben und anschließend von Van den Bergh[4,5] zur Entwicklung der ersten Methode zur Quantifizierung von Bilirubin in normalen und pathologischen Serumproben verwendet. Modifikationen und Verbesserungen dieser Reaktion in sauren und alkalischen Medien wurden von vielen Autoren beschrieben.
Freies Bilirubin ist in wässriger Lösung nicht löslich und benötigt zur Reaktion eine Lösung in Alkohol oder anderen Lösungsmitteln. Reaktionen in solchen Lösungsmitteln ermöglichen die Messung von Totalem Bilirubin. Die Mono- und Diglucuronide von Bilirubin sind wasserlöslich und Messungen in wässriger Lösung weisen das nach, was in dieser Form direktes Bilirubin genannt wird.
In unseren Reagenzien wird Dimethylsulfoxid (DMSO) und Ethylenglycol als Lösungmittel für den Nachweis von Totalem Bilirubin verwendet. Bilirubin reagiert dort einfach mit einem stark gefärbten Diazo-Farbstoff. Die Farbintensität dieses Farbstoffs in Lösung ist proportional der Konzentration von totalem Bilirubin.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN	KONZENTRATION	
Reagenz 1		
Sulfanilsäure	32.2	mmol/L
Ethylenglycol		
Dimethylsulfoxid (DMSO)		
Reagenz 2		
Natriumnitrit	109	mmol/L

ERFORDERLICHE ZUSATZMATERIALIEN

- Kalibrator, z.B.:

REF	Name	Inhalt	
D98485	Diacal Auto	5 x	3 mL
D98485SV	Diacal Auto	1 x	3 mL

- Kontrollen, e.g.:

REF	Name	Inhalt			Beschreibung
D98481	Diacon N	12	x	5 mL	Kontrolle normal
D14481	Diacon N	5	x	5 mL	Kontrolle normal
D98481SV	Diacon N	1	x	5 mL	Kontrolle normal
D98482	Diacon P	12	x	5 mL	Kontrolle abnormal
D14482	Diacon P	5	x	5 mL	Kontrolle abnormal
D98482SV	Diacon P	1	x	5 mL	Konrolle abnormal

- Übliche Laborausrüstung.
- Analysegerät: klinisch-chemisches Analysegerät.

REAGENZVORBEREITUNG

Substratstart:
Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Probenstart:
150 Teile Reagenz 1 werden mit 1 Teil Reagenz 2 gemischt (=Arbeitsreagenz).

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagerbedingungen: Lichtgeschützt aufbewahren!
Kontamination vermeiden
Nach Gebrauch sofort gut verschließen.
Reagenzien nicht einfrieren!

Substratstart:

Lagerung:	bei 2 – 8 °C	
Stabilität:	bis zum angegebenen Verfallsdatum	
Probenstart (Arbeitsreagenz)		
Stabilität:	bei 20 - 25 °C	8 Stunden*

*in dunklen Flaschen.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Die in Bilirubin Total, Jendrassik Grof enthaltenen Bestandteile sind gemäß der EG-Verordnung 1272/2008 (CLP) wie folgt eingestuft:

   Reagenz 1: Gefahr

   Enthält Sulfanilsäure. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
   H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
   P260: Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
   P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
   P303+P361+P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
   P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

2. Reagenz 2 enthält Natriumazid (0.95 g/L) als Konservierungsmittel. Reagenzien nicht verschlucken. Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
3. Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter (SDB) und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien.
4. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
5. Bei Fehlfunktion des Produkts oder einem veränderten Aussehen, das die Leistung beeinträchtigen könnte, wenden Sie sich an den Hersteller.
6. Jeder schwerwiegende Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem sich der Anwender und/oder Patient befindet, gemeldet werden.
7. Nur für professionelle Anwendung.

PROBENGEWINNUNG UND VORBEREITUNG

Humanes Serum oder Plasma.

Es ist wichtig, die Proben lichtgeschützt aufzubewahren!
Nur klare, nicht hämolysiertes Serum verwenden.

Stabilität[6]:

In Serum/Plasma	bei 20 – 25 °C	2 Tage
	bei 4 – 8 °C	7 Tage
	bei - 20 °C	6 Monate*

* Bei sofortigem Einfrieren.
Nur einmal einfrieren! Kein kontaminiertes Probenmaterial verwenden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Methode:	Endpunkt, Jendrassik Grof, DMSO, Colorimetrisch
Wellenlänge:	555 nm
Schichtdicke:	1 cm
Temperatur:	20 – 25 °C, 37 °C
Messung:	Gegen den passenden Leerwert. Extinktionszunahme.

Reagenz und Proben auf Raumtemperatur bringen.

Proben-Start:

In Küvette(n) pipettieren	Proben-Leerwert	Probe	Kalibrator-Leerwert	Kalibrator
Reagenz 1	1000 µL	-	1000 µL	-
Arbeitsreag.	-	1000 µL	-	1000 µL
Probe	100 µL	100 µL	-	-
Kalibrator	-	-	100 µL	100 µL
Sofort mischen. 3 min. bei 30°C inkubieren oder 2 min. bei 37°C. Die Absorption jedes Tests gegen den passenden Leerwert messen.				

Substrat-Start:

In Küvette(n) pipettieren	Proben-Leerwert	Probe	Kalibrator-Leerwert	Kalibrator
Reagenz 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Probe	100 µL	100 µL	-	-
Kalibrator	-	-	100 µL	100 µL
Reagenz 2	-	10 µL	-	10 µL
Sofort mischen. 3 min. bei 30°C inkubieren oder 2 min. bei 37°C. Die Absorption jedes Tests gegen den passenden Leerwert messen.				

Automation

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch-technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
IZ NOE-Sued, Hondastrasse, Objekt M55, 2351 Wr. Neudorf, Austria
Phone: +43 (0) 2236 660910-0, Fax: +43 (0) 2236 660910-30, e-mail: office@dialab.at

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Berechnung

Mit Kalibrator:

$$\text{Bilirubin [mg/dL]} = \frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalibrator}} \times \text{Konz. Kalibrator [mg/dL]}$$

Mit Faktor: (1 cm Schichtdicke)

Aus den abgelesenen Extinktionen wird ΔE berechnet und mit dem entsprechenden Faktor multipliziert:

Bilirubin [mg/dL] = ΔE Probe x Faktor

Faktor: 12.9

Der Faktor muss durch ein Kalibrationsserum überprüft und bei Bedarf angepasst werden!

Umrechnung
Bilirubin [mg/dL] x 17.1 = Bilirubin [µmol/L]

QUALITÄTSKONTROLLE UND KALIBRATION

Wir empfehlen die DIALAB Kontrollen **Diacon N** (Kontrollserum mit Werten im Normalbereich) und **Diacon P** (Kontrollserum mit Werten im abnormalen Bereich). Alle Sollwerte der Kontrollen sind auf das DIALAB Reagenz/Kalibratorsystem rückführbar. Nach der Kalibration muss eine Qualitätskontrolle durchgeführt werden. Die Kontrollintervalle und -grenzwerte müssen an die individuellen Anforderungen des jeweiligen Labors angepasst werden. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgelegten Bereiche liegen. Beachten Sie die einschlägigen gesetzlichen Bestimmungen und Richtlinien. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

Kalibrierung
Wir empfehlen das DIALAB Multikalibrationsserum **Diacal Auto**.

LEISTUNGSDATEN

Präzision (bei 37 °C)

Innerhalb der Testserie, n = 20	Mittelwert [mg/dL]	SD [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	0.80	0.01	1.82
Probe 2	1.16	0.02	1.32
Probe 3	4.69	0.02	0.45

Zwischen den Testserien, n = 20	Mittelwert [mg/dL]	SD [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	0.82	0.02	2.38
Probe 2	1.13	0.02	1.56
Probe 3	4.61	0.03	0.71

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze ist 1 mg/dL.

Linearität und Messbereich

Der Test ist bis 20 mg/dL linear. Proben mit Bilirubin-Konzentrationen höher als 20 mg/dL sollten mit dest. oder entionisiertem Wasser verdünnt und wiederholt werden. Die Ergebnisse mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

Analytische Spezifität

Keine Interferenzen bis zu einer Konzentration von:

Hämoglobin 1000 mg/dL

Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS[7].

Klinische Leistung

Ein Vergleich zwischen dem DIALAB Bilirubin Total, Jendrassik Grof (y) und einem kommerziell erhältlichen Test (x) unter Verwendung von 55 Proben ergab folgendes Ergebnis: y = 0.989 x + 0.001 mg/dL; r= 0.998.

RÜCKVERFOLGBARKEIT

Die Sollwerte von Diacal Auto sind rückführbar auf den molaren Extinktionskoeffizienten 546 nm.

ERWARTETE WERTE

	[mg/dL]	[µmol/L]
Neugeborene[1]		
24h	< 8.8	< 150
2. Tag	1.3 – 11.3	22 – 193
3. Tag	0.7 – 12.7	12 – 217
4. – 6. Tag	0.1 – 12.6	1.7 - 216
Kinder[1]	0.2 – 1.0	3.4 – 17
>1 Monat		
Erwachsene[1]	0.1 – 1.2	1.7 - 21

Jedes Labor sollte überprüfen, ob die Referenzbereiche auf die eigene Patientenpopulation übertragbar sind und, falls nötig, eigene Referenzbereiche ermitteln.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Obwohl in Verifizierungs- und Validierungsstudien die Auswirkungen wahrscheinlicher Interferenzen in diesem Test untersucht wurden, besteht die Möglichkeit einer Interferenz durch unbekannte Substanzen. Daher ist es, wie bei jedem diagnostischen Test, möglich, dass technische Fehler, Verfahrensfehler sowie nicht aufgeführte Substanzen und Faktoren störend wirken mit der ordnungsgemäßen Funktion des Testkits.

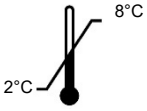
ABFALLENTSORGUNG

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

BIBLIOGRAPHIE

1. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: p. 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Ehrlich, P., Centr. Klin. Med. 1883; 4: 721.
4. Van den Bergh, A.A.H. and Snapper, J., Deut. Arch. Klin. Med. 1913; 110:540.
5. Van den Bergh, A.A.H. and Muller, P., Biochem Z. 1916; 77:90.
6. Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. The Quality of Diagnostic Samples. 3rd ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2010. p. 36-37.
7. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
8. Walters, M. and Gerarde, H., Microchem. J. 1970; 15:231.
9. Henry, R.J., Editor, Clinical Chemistry, Principles and Technics, p.1058, Harper and Row, Publishers, Hagerstown, Maryland, 1974.
10. Novros, V.S., Koch, T.R. and Knoblock, EC., Clin. Chem. 1979; 25:1891.
11. Doumas, B.T., Perry, B.W., Sasse, E.A. and Straumfjord, J.V. Jr., Clin. Chem. 1973; 19:984.
12. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, p. 940, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.

VERWENDETE SYMBOLE

Symbol	Beschreibung
Cont.	Inhalt

CE IVD