

REF 10207-4 4 x 29 ml / 8 ml

GESAMTBILIRUBIN (TBIL)

Die Patronen enthalten jeweils ein Nutzvolumen von 29 ml R1-Reagens und 8 ml R2-Reagens.

VERWENDUNGSZWECK

Das EasyRA-TBIL-Reagens ist für die quantitative Bestimmung des Gesamtbilirubins im menschlichen Serum oder Plasma von Erwachsenen anhand des klinischen MEDICA EasyRA-Analysators vorgesehen. Bilirubin wird bei der Diagnose und Behandlung von Leber-, hämolytischen, hämatologischen und Stoffwechselerkrankungen, darunter Hepatitis und Gallenkolik, gemessen.

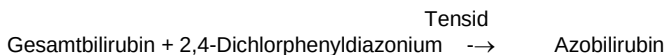
Es ist nur für die *In-vitro*-Diagnose und den professionellen Einsatz bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Bei Bilirubin handelt es sich um ein Pigment, das aus Hämoglobin entsteht und als Ergebnis der Zerstörung von roten Blutkörperchen im Serum enthalten ist. Ein erhöhter Bilirubinwert kann auf hämolytische Prozesse, ein Leberleiden oder Erkrankungen des Gallengangs zurückzuführen sein. Bilirubin existiert in zwei Formen: nichtkonjugiert (indirekt) und konjugiert (direkt). Nichtkonjugiertes Bilirubin wird zur Leber transportiert, wo es von Albumin gebunden und so mit Glukuronsäure konjugiert (direkt) wird. Das Produkt wird schließlich ausgeschieden. Nichtkonjugiertes Bilirubin ist in einer wässrigen Lösung nicht löslich. Zur Solubilisierung sind Alkohole und andere Lösungsmittel erforderlich. In Tests, bei denen diese Lösungsmittelarten zum Einsatz kommen, kann die Gesamtmenge an Bilirubin ermittelt werden. Bilirubinmono- und -diglukuronidkonjugate sind wasserlöslich. Bei Tests mit diesen Verbindungen wird direktes Bilirubin gemessen. Bei der Standardmethode reagiert Bilirubin mit einem Diazoreagens (z. B. 2,4-Dichlorphenyldiazoniumsalz), wobei die farbige Verbindung Azobilirubin entsteht. Es werden verschiedene Zusätze wie Ethanol¹, Koffein² und DMSO³ hinzugegeben, um die Reaktion und die Bildung von Azobilirubin zu beschleunigen. Darüber hinaus kommen Tenside als Lösungsvermittler⁴ zum Einsatz.

PRINZIP

Bei dieser Endpunktreaktion wird das Gesamtbilirubin (konjugiert und nichtkonjugiert) gemessen, das sich in Gegenwart des Tensids mit 2,4-Dichlorphenyldiazoniumsalz verbindet, wobei Azobilirubin entsteht.



Die Absorbanzerhöhung bei 550 nm ist direkt proportional zur Konzentration des Gesamtbilirubins in der Probe.

REAGENZIEN

TBIL-Reagens (R1):

NaCl	154 mmol/l
HCl	190 mmol/l
Tenside und Konservierungsmittel	

TBIL-Reagens (R2):

HCl	417 mmol/L
2,4-Dichlorphenyldiazoniumsalz	5 mmol/l

Tensid

Vorsichtsmaßnahmen

1. Die „Gute Laborpraxis“ sollte bei der Handhabung jeglicher Laborreagenzien befolgt werden (CLSI, GP17-A2).
2. Die Reagenzien R1 und R2 sind saure Lösungen. Auf KEINEN Fall einatmen oder einnehmen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Bei Kontakt mit Augen sofort mit viel Wasser ausspülen und einen Arzt konsultieren. Bei Hautkontakt sofort 10 Minuten lang mit Wasser abspülen. Wenn verschluckt, unverzüglich ärztliche Hilfe aufsuchen. Informieren Sie sich im Sicherheitsdatenblatt über Risiken, Gefahren und Sicherheit.
3. Wie bei Diagnosetests üblich sollte die Auswertung der Ergebnisse unter Beachtung aller Testergebnisse und des klinischen Status des Patienten erfolgen.
4. Verwenden Sie keine gewaschenen Küvetten.

HANDHABUNG, LAGERUNG UND BESTÄNDIGKEIT DES REAGENS: Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Ungeöffnetes Reagens ist bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil, wenn es bei einer Temperatur von 2–8 °C gelagert wird. Das Reagens ist im gekühlten Reagensbereich des EasyRA-Analysators über den Zeitraum stabil, der auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert ist. Verwenden Sie das Reagens nicht, wenn es trübe bzw. unklar ist und/oder nicht in der Lage ist, bekannte Kontrollwerte für Serum wiederherzustellen.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG/STABILITÄT

Zu verwenden ist klares, nicht hämolysiertes Serum oder Plasma. Proben vor direkter Sonneneinstrahlung und künstlichen Lichtquellen schützen, da direktes (nichtkonjugiertes) Bilirubin instabil⁵ ist. Der Test sollte innerhalb von 2 Stunden nach der Probenentnahme erfolgen, da Bilirubin in der Probe instabil ist. Ist die Einhaltung dieses Zeitraums nicht möglich, Proben bei 2–8 °C⁶ bis zu 3 Tage lagern. Die Proben können bei –70 °C auch 3 Monate gelagert werden. Mit Lithiumheparin beschichtete Röhrchen können für die Plasmasammlung verwendet werden.

PROZEDUR

Bereitgestellte Materialien

Medica-TBIL-Reagenspatrone, REF 10207

Zusätzlich erforderliche Materialien

Medica-EasyCal-Testsubstanz, REF 10651

Medica-EasyQC®-Testsubstanz/Elektrolyte – Stufe A, REF 10793

Medica-EasyQC-Testsubstanz/Elektrolyte – Stufe B, REF 10794

Medica-Präzisionstest-Farbstoffpatrone, REF 10764

Medica-Reinigungspatrone – Testsubstanz + ISE, REF 10660 *oder*

Medica-Reinigungspatrone – Testsubstanz, REF 10661

Gebrauchsanweisung

Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Entfernen Sie den Deckel und geben Sie das Reagens in die Reagensschale des EasyRA-Analysators im gekühlten Reagensbereich. Geöffnetes Reagens ist im gekühlten Reagensbereich des EasyRA-Analysators über den Zeitraum stabil, der auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert ist (max. 28 Tage), oder wenn es herausgenommen und nach dem ersten Öffnen gekühlt und mit dem Deckel verschlossen bei 2–8 °C gelagert wird.

Hinweis: Überprüfen Sie das Innere der Patronenhäule auf Schaum, nachdem Sie die Deckel entfernt und die Patrone in den Analysator eingesetzt haben. Entfernen Sie etwaigen Schaum mit einem Tupfer oder einer Einwegpipette, bevor Sie den Test durchführen. Verwenden Sie für R1 und R2 verschiedene Tupfer und Einwegpipetten.

Kalibration

Medica-EasyCal-Testsubstanz (REF 10651) wird für die Kalibration des Tests empfohlen. Das Kalibrationsintervall (max. 7 Tage) ist auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert. Eine Neukalibration ist immer dann erforderlich, wenn sich die Reagens-Chargennummer ändert oder sich Qualitätskontrollwerte verschieben.

Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, täglich bei jedem Patiententest und bei jedem Wechsel der Reagens-Charge zwei Stufen menschlicher, serumbasierter Kontrollsubstanzen (normal und abnorm) mit dem Test durchzuführen. Befinden sich die Werte bei dem Durchlauf der Kontrollsubstanzen außerhalb des gültigen Wertebereichs, kann dies auf Reagensverfall, eine Instrumentenfehlfunktion oder Verfahrensfehler zurückzuführen sein. Bei der Verwendung von Kontrollsubstanzen sollte das Labor Qualitätskontrollrichtlinien auf lokaler, Landes- und Bundesebene befolgen.

Ergebnisse

Nach dem Abschluss des Tests berechnet der Medica EasyRA-Analysator die Gesamtbilirubinkonzentration über das Verhältnis zwischen der korrigierten Absorbanz der unbekannten Probe und der korrigierten Absorbanz des Kalibrators multipliziert mit dem Kalibratorwert.

$$\text{TBIL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{600}}) - (A_{R_{Bik}_{550}} - A_{R_{Bik}_{600}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{600}})_{S_{Bik}} - (A_{R_{Bik}_{550}} - A_{R_{Bik}_{600}})_{S_{Bik}}] \times dF}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{600}}) - (A_{R_{Bik}_{550}} - A_{R_{Bik}_{600}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{600}})_{S_{Bik}} - (A_{R_{Bik}_{550}} - A_{R_{Bik}_{600}})_{S_{Bik}}] \times dF} \times \text{Kal. - Wert}$$

A_U ist der Absorbanzwert der Unbekannten, A_C der Wert des Kalibrators. $A_{R_{Bik}}$ ist die Absorbanz des Blindreagens. S_{Bik} ist die Blindprobe. „Kal.-Wert“ stellt die Gesamtbilirubinkonzentration im Kalibrator (mg/dl) dar. Da sich das Volumen der Reaktion mit der verzögerten Zugabe des R2-Reagens ändert, fließt ein Verdünnungskorrekturfaktor (dF) in die Berechnung mit ein.

Die Blindprobe wird für die Differenz im Verdünnungsfaktor zwischen R1 und (R1 + R2) korrigiert:

$$dF = \frac{\text{Reag.1-Vol.} + \text{Verd. Vol.} + \text{Prob.- Vol.}}{\text{Gesamt volumen}}$$

Erwartungswerte¹⁰

Der Bezugsbereich für TBIL im Serum stellt sich wie folgt dar:

Erwachsene: 0,2–1,0 mg/dl

Bei diesen Werten handelt es sich um Richtlinien. Dabei ist es wichtig, dass jedes Labor eigene Normalwertebereiche festlegt, da zwischen Instrumenten, Labors und der lokalen Bevölkerung Unterschiede bestehen.

Verfahrensbeschränkungen (z. B. wenn Probe über Testbereich)

Zu verwenden sind ausschließlich nicht hämolysierte Serum- oder Plasmaproben. Dieser Test wurde noch nicht für Neugeborene beurteilt.

Der EasyRA-Analysator kennzeichnet jedes Ergebnis über 20 mg/dl als „Linearität hoch“ (LH). Über das „Wiederholen“-Symbol kann die Probe unter Verwendung der Hälfte (1/2) des Probenvolumens erneut getestet werden. Bei den Ergebnissen wird das kleinere Probenvolumen mit einberechnet. Dies erweitert den möglichen Bereich des TBIL-Tests effektiv auf 40 mg/dl.

LEISTUNGSDATEN⁹

Möglicher Bereich

Der mögliche Bereich erstreckt sich von 0,08 bis 20 mg/dl. Der erweiterte Bereich reicht von 0,08 bis 40 mg/dl, wenn die Hälfte der Probe verwendet wird (1:1-Verdünnung).

Ungenauigkeit/Korrelation (CLSI, EP9-A2)

In der folgenden Tabelle sind die Daten aus einem Vergleich zwischen dem Medica-Reagens für TBIL (y) auf dem EasyRA-Analysator und der Leistung eines ähnlichen TBIL-Reagens (x) auf dem COBAS MIRA-Analysator* von Roche zu finden. Die unten aufgeführten Daten stellen Einzelbestimmungen vom EasyRA-Analysator im Vergleich zum Durchschnitt zweier Wiederholwerte vom Roche COBAS-MIRA-Analysator dar.

Probenanzahl	65	Probenbereich	0,05 bis 19,8 mg/dl
Steigung	1,0043	y-Abschnitt	-0,1966
Korrelationskoeffizient	0,9957	Regressionsgleichung:	$y = 1,0043 \cdot x - 0,1966$

*Cobas Mira ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

In der folgenden Tabelle sind die Daten aus einem Vergleich zwischen abgestimmten Proben von Serum (x) und Plasma (y) unter Verwendung des Medica-Reagens für TBIL auf dem EasyRA-Analysator zu finden. Die nachstehenden Daten repräsentieren eine einzelne Plasmabestimmung im Vergleich zum Durchschnitt von zwei Wiederholungsserumproben.

Probenanzahl	62	Probenbereich	0,17 bis 16,78 mg/dl
Steigung	0,9952	y-Abschnitt	-0,0079
Korrelationskoeffizient	0,9998	Regressionsgleichung	$y = 0,9952 \cdot x - 0,0079$

Impräzision (CLSI, EP5-A2)

Zweifachmessungen für jede der drei Stufen von QK-Substanzen wurden 20 Tage lang zweimal pro Tag getestet. Sowohl die Präzision während des Durchlaufs als auch die Gesamtpräzision wurde aus diesen Daten gefolgert.

Impräzision bei Durchlauf:

QK-Stufe mg/dl	SA Durchlauf mg/dl	VK Durchlauf %
3,36	0,02	0,67
1,66	0,02	1,13
0,44	0,01	2,64

Gesamtpräzision:

QK-Stufe mg/dl	SA Gesamtpräzision mg/dl	VK Gesamtpräzision %
3,36	0,05	1,35
1,66	0,03	2,09
0,44	0,02	3,81

Linearität (CLSI, EP6-A)⁹

Linear von 0,08 bis 20 mg/dl, basierend auf der linearen Regression $y = 0,98 \cdot x + 0,0921$

Erfassungsgrenze (LoB):	0,04 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Nachweisgrenze (LoD):	0,06 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Quantifizierungsgrenze (LoQ):	0,05 mg/dl	(CLSI, EP17-A)

Störsubstanzen (CLSI, EP7-A)

Weniger als 10 % Störung wurde als keine signifikante Störung eingestuft.

Es besteht eine signifikante Störung bei Hämoglobinkonzentrationen über 125 mg/dl.

Es bestehen möglicherweise signifikante Störungen von Triglyzeriden. Keine lipämischen Proben verwenden.

Es besteht eine signifikante positive Interferenz von Indocyanin Grün.

Proben mit erhöhten Immunglobulin-M-Werten (IgM) oder Proben von Patienten mit Morbus Waldenström können zu unzuverlässigen Ergebnissen führen.

Liste von Medikamenten und anderen Substanzen nach Young, die klinische Labortests⁷ störend beeinflussen.

Literaturverzeichnis

1. Malloy H. T. und Evelyn, K. A., *The Determination of Bilirubin with the Photoelectro Colorimeter.*, J. Biol. Chem 119:481–490 (1973).
2. Jendrassik, L. und Grof. P. Vereinfachte, Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blubilirubins, Biochem. A. 297: 81–89 (1938)
3. Walters, M. und Gerarde, H. *An Ultramicromethod for the Determination of Conjugated and Total Bilirubin in Serum or Plasma.* Microchem. J. 15:231–243 (1970).
4. Winsten, J. und Cehelyk, B., *A Rapid Micro Diazo Technique for Measuring Total Bilirubin.*, Clin. Chem. Acta 25: 441–446 (1969).
5. Henry, R. J. *Clinical Chemistry, Principles and Technics*, Hagerstown, MD: Harper and Row, Herausg. 1974:1058.
6. Tietz N. W. *Textbook of Clinical Chemistry*, W. B. Saunders und Co., Philadelphia, P. A., 1986: S. 1388.
7. Young D. S. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4. Ausg. Washington, D. C.: AACC Press; 1995.
8. Young D. S. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2. Ausg. Washington, D. C.: AACC Press; 1997.
9. Daten hinterlegt bei Medica
10. Burtis, C. A. und Ashwood, E. R. (Herausg.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2. Ausg., W. B. Saunders Co., Philadelphia (1994)
11. NCCLS EP9-P
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices* (NCCLS) Dokument EP5-T2 (ISBN 1-56238-145-8), 1992.

EasyRA-Testparameter (TBIL)

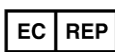
Primärwellenlänge (nm)	550
Sekundärwellenlänge (nm)	600
Reaktionstyp	Endpunkt (2)
Reaktionsrichtung	Erhöhung
Blindreagens	ja (bei jeder Kalibration)
Blindprobe	ja
Reaktionszeit	5,6 min
Kalibrationsintervall (max.)	7 Tage
Einlegestabilität Reagens	28 Tage

Serum/Plasma

Probenvolumen (µl)	8.0
Volumen Verdünner 1 (µl)	15
Volumen Verdünner 2 (µl)	15
Volumen Reagens R1 (µl)	150
Volumen Reagens R2 (µl)	38
Dezimalstellen (Standardwerte)	2
Einheiten (Standardwerte)	mg/dl
Verdünnung	1:1 (zur Messbereichserweiterung)
Linearität	0,08 to 20 mg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands