

Eigenschaften

Wako Total Bilirubin L-Type ein stabiles Flüssigreagenz für die quantitative Bestimmung vom Gesamt-Bilirubin im Serum.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Die Bestimmung des Serum-Bilirubins wird allgemein als Test zur Überprüfung der Leberfunktion verwendet. Überwiegend werden dazu Verfahren verwendet, die auf einer Azokupplung^{1,2,3} oder der enzymatischen Reaktion durch Bilirubin-Oxidase beruhen⁴. Nachteile dieser Verfahren liegen in der Störung durch gleichzeitig vorhandene Serums-substanzen und unbefriedigende Stabilität der Reagenzien nach Vorbereitung. Wako Total Bilirubin L-Type beruht auf einer chemischen Oxidationsmethode und verwendet Vanadat als Oxidationsmittel. Das Verfahren zeigt eine gute Korrelation zu herkömmlichen Methoden, praktisch keine Störung durch gleichzeitig vorhandene Serums-substanzen und verwendet anwender-freundliche, gebrauchsfertige Flüssig-Reagenzien⁵.

Testprinzip

Beim Mischen von Serum mit dem Detergenz und Vanadat enthaltenden Reagenz bei etwa pH3, oxidiert das Gesamt-Bilirubin zu Biliverdin. Dabei verringert sich die Bilirubin-spezifische Absorption. Der Gesamt-Bilirubin-Gehalt der Probe läßt sich daher durch Messen der Absorption vor und nach Vanadat-Oxidation bestimmen.

Reaktion



Reagenzien

Zusammensetzung und Lagerbedingungen

R1: Pufferlösung	4 Flaschen	lagern bei 2-35°C
R2: Vanadatlösung	4 Flaschen	lagern bei 2-35°C

Bestandteile

R1: Pufferlösung	Citratpuffer (pH2,9) Detergenz	0,1 mol/l
R2: Vanadatlösung	Phosphatpuffer (pH7,0) Natriummetavanadat	10 mmol/l 4 mmol/l

R1: Pufferlösung: Gebrauchsfertig. Diese Lösung ist bei 2-35°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

R2: Vanadatlösung: Gebrauchsfertig. Diese Lösung ist bei 2-35°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für *in vitro* - Bestimmungen.
- Nur für den professionellen Anwender.
- Darf beim Menschen oder Tier nicht *in vivo* angewendet werden.
- Reagenzien von Packungen mit verschiedenen Chargennummern nicht mischen.
- Reagenzien nach dem auf der Packung angegeben Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Zubereitungen, Testlösungen und Reagentin dürfen nur für den hier beschriebenen Test verwendet werden.
- Längere Aufbewahrung der angebrochenen Reagenzien wird nicht empfohlen. Nach dem Anbruch bitte wieder gut verschließen und bei der angegebenen Temperatur lagern.
- Bei Entsorgung der Reagenzien sind die nationalen und örtlichen Vorschriften zu beachten.

Referenzbereich

Gesamt-Bilirubin im Serum: 0,2-1,0 mg/dl⁶.

Da die Werte von Alter, Geschlecht, Ernährung, Land und anderen Faktoren abhängig sind, sollte jedes Labor seine eigenen Werte für dieses Verfahren bestimmen.

Physikalische und chemische Anzeichen von Instabilität

Das Vorhandensein eines Niederschlags im Reagenz oder Wiederfindung in Kontrollseren außerhalb des vom Hersteller angegebenen Bereichs sind ein Hinweis auf die Instabilität des Reagenzes.

Geräte

Das Reagenz ist zur Verwendung auf kommerziell erhältlichen Analysenautomaten vorgesehen. Bezüglich einer Beschreibung der Gerätebedienung und -spezifikation verweisen wir auf das Handbuch des Geräteherstellers. Eine praktische Validierung des Verfahrens vom Anwender am Einsatzort durch Bestimmung einer ausreichenden Anzahl adäquater Kontroll- und Patientenseren ist unerlässlich.

Probenmaterial

Für die Bestimmung sollten frisch angesetzte Proben verwendet werden. Zur Lagerung ist die Probe tiefgefroren (-20°C) und vor Licht geschützt aufzubewahren, da Serum-Bilirubin unter Lichteinwirkung zu Biliverdin reagiert.

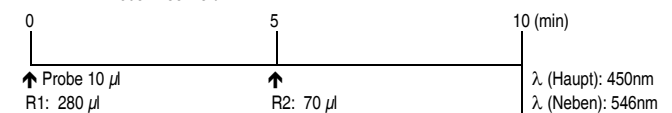
Ascorbinsäure bis 50 mg/dl beeinflusst die Messung nicht. Hämoglobin-Konzentrationen bis 500 mg/dl haben keinen signifikanten Einfluß auf das Meßergebnis.

Standardverfahren

37°C (Hitachi®911)

Proben-Leerwert ↓

Messung



Ergebnisse

Die Endergebnisse werden automatisch berechnet und in Konzentrationseinheiten ausgedrückt (mg/dl).

Grenze der Methode

Linearität: 0,1 - 40 mg/dl.

Wenn die Gesamt-Bilirubin-Werte über 40 mg/dl liegen, ist das Probenmaterial mit physiologischer Kochsalz-Lösung 1:1 zu verdünnen und die Messung zu wiederholen. Die erhaltene Konzentration muß mit 2 multipliziert werden.

Leistungsdaten des Tests

Sensitivität: Die theoretische Sensitivität dieser Methode, gemessen in Einheiten eines Extinktionskoeffizienten, beträgt bei 450/ 546 nm 92,88 l/gm · cm.

Spezifität: Ascorbinsäure, Hämoglobin und Intrafat beeinträchtigen den Test bis zu Konzentrationen von je 50 ,500 mg/dl und 5% nicht.

Richtigkeit: 44 Serumproben wurden mit dem beschriebenen Verfahren und einem kommerziell erhältlichen Reagenz gemessen (Azobilirubin). Die Korrelation der beiden Verfahren wird beschrieben durch: $r=0,994$; $y=0,957x+0,051$.

Präzision: Die Präzision der Methode wurde gemäß NCCLS EPS-T2 Protokoll ermittelt und ergab Variationskoeffizienten VK von 2% (n=20) oder weniger.

Qualitätskontrolle

Eine Qualitätskontrollroutine wird allen klinischen Laboratorien empfohlen.

Literatur

- Malloy H.T., Evelyn K.L. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimetry. J.Biol. Chem., 199: 481-490, (1937).
- Jendrassik L., Cleghorn T.R.A. Photometrische Bilirubinbestimmung. Biochem. Z. 289; 1-14, (1937).
- Michaelsson M. Bilirubin determination in serum and urine. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 12 (Suppl 56): 1-80, (1937).
- Murao S., Tanaka N. A new enzyme „bilirubin oxidase“, produced by Myrothecium varrucaria MT-1. Agric. Biol. Chem. 45: 2383-2384, (1981).
- Tokuda K. und Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. Jpn. J. Clin. Chem., 22 (2), 116-122 (1993).
- Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, zweite Ausgabe, S. 1468 (Saunders).

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Produkt	Packung
417-23295	Total Bilirubin L-Type R1	R1: 4 x 70 ml
419-23495	Total Bilirubin L-Type R2	R2: 4 x 18 ml
419-73295	Bilirubin Calibrator	CAL: 4 x für 3 ml