

Fluitest® BIL direct

BILIRUBIN JENDRASSIK/GRÓF METHOD



Order information:

Catalog No.		Contents					
H3301	Hit I (ILab*)	R1	6 x	100 ml	R2	4 x	40 ml
		R3	4 x	8 ml			
H3303	Hit 917 (AU*)	R1	5 x	60 ml	R2	5 x	12 ml
		R3	5 x	3 ml			

(*) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi systems

System information:

Hitachi 911: ACN 202

Hitachi 917: ACN 294

For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Quantitative determination of direct bilirubin in serum, heparinized plasma or EDTA plasma by the Jendrassik-Gróf method.

Summary:

80-85% of bilirubin originates on degradation of hemoglobin with the other 15-20% being derived from cytochrome, myoglobin and catalases. Unconjugated bilirubin, which binds to plasma albumin, is produced in the course of degradation in the reticuloendothelial system, liver Kupffer cells, spleen and bone marrow. Unconjugated (primary, indirect, water-insoluble) bilirubin is soluble in lipids and toxic. With the aid of the glucuronyl transferase enzyme, bilirubin is conjugated primarily by glucuronic acid in the microsomes of hepatic parenchymal cells. In contrast to unconjugated bilirubin, conjugated (secondary, direct) bilirubin is soluble in water, and is excreted via the kidneys. Bilirubin assays are suitable for evaluating the degree of severity of icteric clinical symptoms as well as for monitoring and objectively assessing these symptoms. Distinguishing between direct and indirect bilirubin is a valuable aid in the differential diagnosis of different forms of jaundice. A direct bilirubin value of < 20 % total bilirubin is an indicator of jaundice of pre-hepatic origin. This value can increase to > 50 % in hepatic and post-hepatic jaundice.

Test principle:

Jendrassik-Gróf method

In the presence of caffeine accelerator, total bilirubin couples with sulfanilic acid to form a red azobilirubin dye. The colour intensity is proportional to the bilirubin concentration. Determination of direct bilirubin is performed without caffeine additive.

Reagents – contents and concentrations:

R1:

Sodium chloride 150 mmol/l

Preservative

R2:

Sulfanilic acid 29 mmol/l

HCl 0.17 N

R3:

Sodium nitrite 25 mmol/l

Preparation and stability:

R1 ready for use.

Working reagent:

Prepare working reagent by pouring the content of bottle R3 into R2. Mix, the resulting reagent is ready to use.

Stability of working reagent: 5 days at 2-8°C, protect from light

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2 to +8°C

Close bottles after use.

Specimen:

Fresh serum, heparinized plasma or EDTA plasma.

Haemolysis interferes with the test. Don't use lipemic sera.

Keep out of light and protect the sample from the effects of sunlight.

Perform the assay immediately.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Note:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Lipemia (Intralipid): Triglycerides may interfere. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Haemolysis interferes with the test. Usually too low values are obtained.

Protect samples from light to avoid false low values.

Lipemia causes falsely high values.

Hepatotoxic drugs which cause cholestasis and haemolysis produce elevated recoveries.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Manual procedure:

Performance of a manual test procedure or similar adaption to a (semi)automatic analyzer needs reagent R4 (tartrate/NaOH) and is therefore only possible with the Fluitest Bili-T/D article #1965.

Measuring /reportable range:

Up to 25 mg/dl (425 µmol/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function dilute manually with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 3). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 4).

Expected values in serum:

Direct bilirubin: < 0.25 mg/dl (4.3 µmol/l)

Analytical sensitivity (lower detection limit):

0.03 mg/dl (0.58 µmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable Bilirubin concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol within (between day n = 20). The following results were obtained:

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	0.73	0.02	2.90
Sample 2	2.15	0.04	1.63
Sample 3	0.90	0.03	3.28

Sample	Within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	0.33	0.01	2.38
Sample 2	0.95	0.01	0.80
Sample 3	2.16	0.01	0.62

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® BIL-Direct (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 1,001 x + 0,0245; \quad r = 0.996$$

Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus 5 x 5 ml #1205

20 x 5 ml #1220

Contropath® Plus 5 x 5 ml #1305

20 x 5 ml #1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Bio-Cal® 20 x 3 ml #1420

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended;

- Daily of working reagent
- after lot change
- as required following quality control procedures

Literature:

1. Silbernagel S, Despopoulos A. Physiologie für die Praxis, Medica 1983; 4 ; 492 – 495
2. Thomas L. Labor und Diagnose, Marburg: Med Verlagsges, 1984.
3. Thaler H. Bilirubin: Ein Wegwerfprodukt bleibt weiter aktuell. Dt. m ed Wschr 1984; 109:283 - 284
4. Stiehl A. Hyperbilirubinämie bei Lebererkrankungen. Fortschr Med 1982; 100:842-845
5. Schmidt E, Schmidt FW. Diagnostik des Ikterus. Dt med Wschr 1984;109:139-144
6. Jendrassik L et al. Biochem Z 1938;297:81.
7. Schellong G, Wende U. Technik für die Eichung von Methoden zur Serumbilirubin-Bestimmung. Klin Wschr 1960;38:703.
8. Richter R. Klinische Chemie, 3rd ed. Basel: Karger Verlag, 1971:450-452.
9. Sherlock S. Liver Disease. London: Churchill, 1951:204.
10. Malloy HT, Evelyn KA. J Biol Chem 1937;119:481.

Fluitest® BIL direct

BILIRUBIN JENDRASSIK/GRÓF METHODE



Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Hit I (ILab*)	Inhalt		
H3301	Hit I (ILab*)	R1 6 x 100 ml	R2 4 x 40 ml	
		R3 4 x 8 ml		
H3303	Hit 917 (AU*)	R1 5 x 60 ml	R2 5 x 12 ml	
		R3 5 x 3 ml		

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme

Systeminformation:

Hitachi 911: ACN 202

Hitachi 917: ACN 294

Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Quantitative Bestimmung von Direktem Bilirubin in Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma nach der Methode Jendrassik-Gróf.

Zusammenfassung:

Bilirubin entsteht zu 80-85% beim Abbau von Hämoglobin und zu 15-20% aus Cytochromen, Myoglobin und Katalasen. Beim Abbau im retikuloendothelialen System, den Kupfer'schen Sternzellen der Leber, in der Milz und im Knochenmark wird un-konjugiertes Bilirubin gebildet und dann an Plasmaprotein gebunden. Unkonjugiertes (primäres, indirektes, wasserunlösliches) Bilirubin ist lipidlöslich und toxisch. In den Mikrosomen der Leberparenchymzellen wird es unter Beteiligung des Enzyms Glucuronyltransferase überwiegend mit Glucuronsäure konjugiert. Konjugiertes (sekundäres, direktes) Bilirubin ist im Gegensatz zur unkonjugierten Form wasser-löslich und kann über die Nieren ausgeschieden werden. Die Bestimmung von Bilirubin ist geeignet zur Erfassung des Schweregrades und des Verlaufs sowie zur Objektivierung des klinischen Symptoms „Ikterus“. Die Unterscheidung von direktem und indirektem Bilirubin trägt zur Differentialdiagnose der Ikterusformen bei. Ein An-teil des direkten Bilirubins deutet auf eine prähepatische Ursache des Ikterus hin, während bei hepatischer und posthepatischer Gelbsucht dieser Anteil auf über 50% ansteigen kann.

Testprinzip:

Methode nach Jendrassik-Gróf

Gesamt-Bilirubin wird in Gegenwart von Coffein als Akzelerator mit diazotierter Sulfanilsäure zu rotem Azobilirubin gekoppelt, dessen Farbintensität proportional der Bilirubinkonzentration ist. Die Bestimmung des „Direkten“ Bilirubins erfolgt ohne Coffeinzusatz.

Konzentration der Reagenzien:

R1:
Natriumchlorid 150 mmol/l
Konservierungsmittel

R2:
Sulfanilsäure 29 mmol/l
HCl 0.17 N

R3:
Natriumnitrit 25 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

Lösung R1 ist gebrauchsfertig.

Herstellung des Arbeitsreagenz: Inhalt von Flasche R3 in Flasche R2 gießen.

Stabilität Arbeitsreagenz: 5 Tage bei 2-8°C, lichtgeschützt lagern

Haltbarkeit der ungeöffneten Komponenten: bei +2 - +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum. Flaschen nach Gebrauch gut verschließen.

Untersuchungsgut:

Frisches Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma.

Hämolyse stört. Lipämische Seren können nicht verwendet werden.

Probe vor Licht und Sonneneinstrahlung schützen. Bestimmung sofort durchführen.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum. Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten

Einschränkung des Verfahrens - Interferenzen:

Lipämie (Intralipid): Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Hämolyse interferiert mit dem Test. Normalerweise ergeben sich dadurch zu niedrige Werte. Belichtung der Proben führt ebenfalls zu niedrigeren Messwerten, daher vor Licht schützen.

Lebertoxische Medikamente, die Cholestase und Hämolyse verursachen bewirken erhöhte Wiederfindungen.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.

• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Die manuelle Durchführung ist mit dieser Testpackung nicht möglich, da Reagenz R4 (Tartrat/NaOH) fehlt. Benutzen Sie für eine manuelle Durchführung oder eine daran angelehnte Geräteadaption das Produkt Fluitest Bili-T/D #1965.

Messbereich:

Bis 25 mg/dl (425 µmol/l)

Bei höheren Konzentrationen werden die Proben mit Rerun Funktion bestimmt oder manuell 1 + 3 mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt. Die Analyse wird wiederholt und das Ergebnis mit 4 multipliziert.

Normalwerte im Serum:

Direktes Bilirubin bis 0,25 mg/dl bzw. 4,3 µmol/l

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0.03 mg/dl (0.58 µmol/l)

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Bilirubinkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	0,73	0,02	2,90
Probe 2	2,15	0,04	1,63
Probe 3	0,90	0,03	3,28

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	0,33	0,01	2,38
Probe 2	0,95	0,01	0,80
Probe 3	2,16	0,01	0,62

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® BILI-T/D (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 1,001 x + 0,0245$; $r = 0,996$

Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contro-path® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Bio-Cal® 20 x 3 ml #1420

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunkt-Kalibration wird empfohlen:

- Täglich des Arbeitsreagenzes
- nach Chargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Literatur:

1. Silbernagel S, Despopoulos A. Physiologie für die Praxis, Medical 1983; 4 : 492 – 495
2. Thomas L. Labor und Diagnose, Marburg: Med Verlagsges, 1984.
3. Thaler H. Bilirubin: Ein Wegwerfprodukt bleibt weiter aktuell. Dt. med Wschr 1984; 109:283 - 284
4. Stiehl A. Hyperbilirubinämie bei Lebererkrankungen. Fortschr Med 1982; 100:842-845
5. Schmidt E, Schmidt FW. Diagnostik des Ikterus. Dt med Wschr 1984;109:139-144
6. Jendrassik L et al. Biochem Z 1938 ;297 :81.
7. Schellong G, Wende U. Technik für die Eichung von Methoden zur Serumbilirubin-Bestimmung. Klin Wschr 1960;38:703.
8. Richter R. Klinische Chemie, 3rd ed. Basel: Karger Verlag, 1971:450-452.
9. Sherlock S. Liver Disease. London: Chuchill, 1951:204.
10. Malloy HT, Evelyn KA. J Biol Chem 1937;119:481.