

Porphobilinogen (PBG)-Test Kit

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
	In-vitro-Diagnostikum		Verfallsdatum
	Batch Code / Losnummer		VORSICHT. Siehe Benutzungsvorschriften
	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften		C-korrosiv
	Xn – gesundheitsschädlich		

VERWENDUNGSZWECK

Dieser Test dient dem qualitativen in vitro Nachweis von Porphobilinogen (PBG) im Urin in vitro zur Unterstützung bei der Differentialdiagnose der akuten Porphyrie.

KLINISCHE BEDEUTUNG^{1,2,3,4}

Bei den verschiedenen Formen der Porphyrie handelt es sich um Störungen, die durch Anomalien der Hämbiosynthese ausgelöst werden. Man unterscheidet zwei Gruppen: die akuten Porphyrien und die nicht-akuten (primär kutanen) Porphyrien. Die beiden Gruppen sind durch eine Reihe klinisch unterschiedlicher Störungen gekennzeichnet.

Die drei häufigen Formen der akuten Porphyrie sind:

- (i) die akute intermittierende Porphyrie (AIP),
- (ii) Porphyria variegata (PV) und
- (iii) die hereditäre Koproporphyrinurie (HCP).

Bei AIP, PV und HCP handelt es sich um dominant vererbte Störungen. Diese können sowohl in der akuten Phase (mit neurologischen Symptomen einhergehend) als auch in der latenten Phase auftreten. Bei PV und HCP können zusätzlich zu den neurologischen Symptomen auch Hautsymptome auftreten.

Bei einem akuten Schub kommt es zu einer Kumulation des Hämvorläufers Porphobilinogen (PBG) in der Leber, begleitet von erhöhten PBG-Konzentrationen im Plasma und Urin. Ein Anstieg der PBG-Konzentration im Urin ist daher ein deutliches Indiz für einen akuten Porphyrie-Schub.

Ein solcher Schub ist meist von Bauchschmerzen und neurologischen Symptomen (von peripherer Neuritis bis zur Tetraplegie) begleitet. Wird kein akuter Schub diagnostiziert, so kann ein chirurgischer Eingriff in Betracht gezogen werden, wobei es jedoch durch die Anästhetika zu einer weiteren Verschlechterung der Erkrankung kommen kann. Bei schweren Schüben kann die Schwäche der Thoraxmuskulatur ein Atemversagen mit potenzieller Todesfolge nach sich ziehen.

Ein akuter Schub kann durch verschiedene Faktoren wie z.B. bestimmte Medikamente, Veränderungen des Hormonstatus, Ernährungsumstellung oder akute Erkrankung ausgelöst werden.

METHODIK^{4,5,6}

Der PBG-Screeningtest basiert auf dem Watson-Schwartz-Test, bei dem im Urin enthaltenes PBG mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (DMAB) in saurer Lösung einen magentaroten Niederschlag bildet. Zur Verbesserung der Spezifität der Methode müssen potenzielle Interferenzstoffe entfernt werden. Der Häufigste ist Urobilinogen, welches ebenfalls einen magentaroten Farbstoff mit DMAB in saurer Lösung bildet. Diese Interferenzstoffe werden im normaler Weise durch organische Extraktion und Zentrifugation entfernt. Diese Extraktionsverfahren sind zeitaufwändig und die Testinterpretation setzt ein gewisses Maß an Erfahrung und Fachkenntnis voraus.

Bei der PBG-Screeningmethode kommt ein Anionenaustauscherharz zum Einsatz, welches im Urin vorliegendes PBG bindet.

Interferierende Substanzen werden dann durch einen einfachen Waschschrift entfernt. PBG wird danach vom Harz eluiert und dem DMAB in saurer Lösung zugeführt. Liegt in der Urinprobe PBG in abnormalen Mengen vor, entsteht ein magentaroter Farbstoff. Durch Vergleichen der Farbreaktion mit der beiliegenden Farbtabelle kann die ungefähre PBG-Konzentration ermittelt werden. Positive Ergebnisse müssen durch eine quantitative Bestimmung bestätigt werden. Quantitative Tests erfordern ein hohes Maß an Fachkenntnis und sind in einem auf Porphyrie spezialisierten Labor durchzuführen.

INHALT DES TESTKITS

AKTIVE BESTANDTEILE

	Menge
Mit Harz gefüllte Spritzen	20
Filter (5 Micron)	20
Dimethylaminobenzaldehyd-Pulver (DMAB)	2x10 Tests (15 ml)
DMAB-Verdünnungslösung (6.1M HCl)	2x10 Tests (15 ml)
Reaktionsröhrchen	20
Elutionsreagenz (1M Essigsäure)	20 Tests (20 ml)
Farbtabelle	1

WARNHINWEISE

- R22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
R34 Verursacht Verätzungen.
R36/38 Reizt die Augen und die Haut.
R37 Reizt die Atmungsorgane.
S26 Bei Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S28 Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser und Seife abwaschen.

Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt zum PBG-Testkit.

REAGENZVORBEREITUNG

Rekonstituieren Sie das DMAB-Pulver wie folgt mit der DMAB-Verdünnungslösung:

- Nehmen Sie den Verschluss der DMAB-Verdünnungslösung ab und setzen Sie den Adapter auf den Flaschenhals.
- Nehmen Sie den Verschluss von der DMAB-Flasche ab und gießen Sie die DMAB-Verdünnungslösung in die Flasche mit dem DMAB-Pulver. Vorsichtig mischen.
- Entsorgen Sie die Verdünnungslösungsflasche mit Verschluss und Adapter.
- Bei Lagerung bei Zimmertemperatur (18-25 °C) in der mitgelieferten Flasche ist dieses Reagenz mindestens 12 Monate stabil. Notieren Sie das Verfallsdatum (Rekonstitutionsdatum plus 12 Monate) auf den dafür vorgesehenen Platz auf dem DMAB-Etikett.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bei Lagerung zwischen 2 und 8 °C sind alle Reagenzien bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

PROBENNAHME UND -HANDHABUNG⁴

Urin:

Eine normale Urinprobe ist für diese Methode ausreichend. Der Urinprobe sollten keine Konservierungsmittel oder Stabilisatoren zugesetzt werden.

Lagerung: Die Urinprobe ist lichtgeschützt aufzubewahren. Der PBG-Test sollte innerhalb von 8 Stunden nach Gewinnung der Urinprobe durchgeführt werden. Ist dies nicht möglich, muss die Probe bei mindestens -20 °C tiefgekühlt werden. Bei einer lichtgeschützten Lagerung bei -20 °C bleibt die Urinprobe mindestens 6 Monate lang stabil.

WEITERE ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- pH-Meter, pH-Indikatorpapier oder pH-Indikatorlösungen,
- Pipette,
- destilliertes oder de-ionisiertes Wasser,
- Uhr,

- Ammoniaklösung, ca. 8 % (Konzentrierte Ammoniaklösung hat etwa 33 %, verdünnen Sie diese 1:4 mit destilliertem Wasser, um ca. 8 % zu erhalten.)

TESTVERFAHREN

1. Vergewissern Sie sich, dass der pH-Wert der Urinprobe ≥ 6 beträgt. Ist dies nicht der Fall, muss der pH-Wert durch den Zusatz verdünnter Ammoniaklösung auf 6 – 8 erhöht werden.
2. Entnehmen Sie den Verschluss der harzgefüllten Spritze und schrauben Sie den Filter darauf fest. Das Wasser aus der Spritze entsorgen und den Filter abnehmen. Ziehen Sie 1 ml der Urinprobe auf; beachten Sie hierbei bitte die seitliche Markierung auf der Spritze. Ziehen Sie eine Luftblase in die Spritze auf (dies unterstützt den Mischvorgang). Setzen Sie den Filter nun wieder auf und mischen Sie die Probe 10 Sekunden lang.
3. Entsorgen Sie den Urin aus der Spritze in den Abfall und nehmen Sie den Filter ab. Ziehen Sie anschließend 1 ml destilliertes oder entionisiertes Wasser sowie eine Luftblase auf. Setzen Sie den Filter wieder fest auf und mischen Sie den Spritzeninhalt 10 Sekunden lang.
4. Entsorgen Sie das Wasser in den Abfall und nehmen Sie den Filter ab. Ziehen Sie 1 ml Elutionsreagenz sowie eine Luftblase in die Spritze auf. Setzen Sie den Filter wieder fest auf und mischen Sie den Spritzeninhalt 10 Sekunden lang.
5. Entsorgen Sie die Lösung aus der Spritze in ein Reagenzröhrchen, welches 1 ml DMAB-Reagenz enthält. Warten Sie 3 Minuten und vergleichen dann die Farbe der Lösung mit der Farbtabelle gegen einen weißen Hintergrund bei guten Lichtverhältnissen.


ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden als "nicht nachgewiesen" (not detected = ND), „+“, „++“ oder „+++“ angegeben, wobei folgende Werte gelten:

nicht nachgewiesen (not detected, ND) = PBG < 25 $\mu\text{mol/l}$ (< 6 mg/l)
 + : PBG \approx 25 - 50 $\mu\text{mol/l}$ (6 - 12 mg/l)
 ++ : PBG \approx 50 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (12 - 23 mg/l)
 +++ : PBG > 100 $\mu\text{mol/l}$ (> 23 mg/l)

HINWEISE

1. Positive Ergebnisse sind mit einer empfohlenen Methode zu bestätigen.⁵ Falls der Bestätigungstest eine akute Porphyrie bestätigt, sollte der Patient unbedingt weiter untersucht werden, um abzuklären, um welchen Typ der Porphyrie es sich handelt. Ebenso sind die Familienangehörigen des Patienten zu untersuchen. Diese Untersuchungen sollten am besten in einem auf Porphyrie-Tests spezialisierten Labor durchgeführt werden; siehe Abschnitt „Porphyrie-Referenzlabor“ in dieser Packungsbeilage.
2. Patienten mit aktuellen Symptomen einer akuten Porphyrie weisen in der Regel eine PBG-Konzentration > 100 $\mu\text{mol/l}$ (+++) auf. In der latenten Phase haben diese Patienten meist normale (nicht nachzuweisende) PBG-Konzentrationen.
3. Die vorliegende Testmethode eliminiert das Hauptproblem des Watson-Schwartz-Tests, dass interferierende Substanzen in der Urinprobe ebenfalls diese Farbreaktion hervorrufen.
4. Die untere Nachweisgrenze der Methode liegt bei 25 $\mu\text{mol/l}$ (6 mg/l) PBG, unabhängig von der Eigenfärbung des Urins.

 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



840626 (R2)

KALIBRATION

Das PBG-Aldehydchromophor ist in gelöster Form instabil und eignet sich daher nicht als Standard.

Im PBG-Testkit befindet sich eine Farbtabelle für folgende PBG-Konzentrationen: A: 25 $\mu\text{mol/l}$, B: 50 $\mu\text{mol/l}$ und C: 100 $\mu\text{mol/l}$.

Die Farbtabelle dient nur der visuellen Auswertung.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Gewährleistung der Qualitätskontrolle wird empfohlen, bei jedem Screeningtest parallel eine als positiv bekannte Urinprobe mitzutesten. Wird bei diesem Kontrollurin kein positives Ergebnis erzielt, so kann dies darauf hindeuten, dass der Test nicht ordnungsgemäß funktioniert.

In solchen Fällen sollten folgende Maßnahmen ergriffen werden:

- Wiederholen Sie den Test mit derselben Kontrolle.
- Ist der Test auch bei der Wiederholung nicht positiv, sollten Sie eine frische positive Urinkontrolle verwenden und den Test erneut wiederholen.
- Wenn auch das Ergebnis der neuen Urinkontrollprobe nicht positiv ausfällt, wenden Sie sich bitte an unseren Technischen Kundendienst oder Ihren örtlichen Lieferanten.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Eine umfassende Erläuterung aller Faktoren, die die PBG-Bestimmung in Urin beeinflussen können, lesen Sie bitte in der Publikation von Young et al.⁷
2. Dieses Test ist nicht für die Diagnose von Porphyrie-Erkrankungen in der latenten Phase mit PBG-Konzentrationen < 25 $\mu\text{mol/l}$ (< 6 mg/l) geeignet.⁵

ZU ERWARTENDE WERTE⁵

Die PBG-Ausscheidung im Urin liegt normalerweise unter 8,8 $\mu\text{mol/l}$ (2 mg/l). Werte über 25 $\mu\text{mol/l}$ (6 mg/l) deuten in der Regel auf das Vorliegen einer Erkrankung (hin. Bei einem Porphyrie-Schub liegt die PBG-Konzentration im Urin meist über 100 $\mu\text{mol/l}$ (23 mg/l)).

SENSITIVITÄT

Bei Testdurchführung gemäß dem empfohlenen Verfahren liegt die untere Sensitivitätsgrenze bei 25 $\mu\text{mol/l}$ (6 mg/l).

PORPHYRIE-REFERENZLABOR

Dieser PBG-Test ist lediglich ein Screeningtest. Positive Ergebnisse sind an ein Porphyrie-Referenzlabor weiterzuleiten, wo das Porphyrinmuster in Urin, Stuhl und Plasma untersucht werden kann. So wird die Diagnose der akuten Porphyrie ggf. bestätigt und die Familienmitglieder des Patienten können ebenfalls untersucht werden. Weitere Einzelheiten hierzu erfragen Sie bitte bei unserem Technischen Kundendienst oder Ihrem örtlichen Lieferanten.

LITERATUR

1. Zilva JF and Pannall RR, "The Porphyrias" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London, 1979; Chap XIX: 395-402.
2. Blake D et al, Clin. Biochem. Revs. 1985; 6: 52-61.
3. Litman D and Correia MA, Clin. Chem. 1986; 32: 1031-3.
4. Blake D, Poulos V and Rossi R, Clin. Biochem. Revs. 1992
5. Nuttall, K.L. "Porphyrias and Disorders of Porphyrin Metabolism" in Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds). WB Saunders Co, 1994.
6. A C Deacon and T J Peters, Ann. Clin Biochem 1998;35:726 - 732.
7. Young DS, Effects of Drugs on Clinical laboratory test. Third edition. 1990; 3 : 278-9.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Nachbestellinformation/Technische Hilfe

Katalog Nr.

Konfiguration

TR52001

20 Test