

REF	A11A01639
REAGENT 1	29,5 mL
REAGENT 2	9,8 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

■ Pentra C400

Réactif de diagnostic pour le dosage quantitatif *in vitro* de la bilirubine totale dans le sérum ou le plasma par colorimétrie.

Version des applications

Sérum, plasma : Bili-T

1.xx (nouveaux-nés : ne pas utiliser aux États-Unis)

Domaine d'utilisation

Le réactif **ABX Pentra Bilirubin, Total CP** est destiné au dosage quantitatif *in vitro* de la bilirubine totale dans du sérum et du plasma humains sur la base d'un test photométrique faisant usage de 2,4-dichloroaniline (DCA). Utilisation en laboratoires cliniques.

Les mesures du niveau (direct ou total) de bilirubine, un composé organique formé pendant la destruction normale et anormale des globules rouges, sont utilisées lors du diagnostic et du suivi des troubles hépatiques, hémoglobiniques et métaboliques.

Intérêt clinique (1, 2)

La bilirubine est un produit de dégradation de l'hémoglobine. Sous forme libre, la bilirubine non conjuguée est extrêmement apolaire et pratiquement insoluble dans l'eau, formant ainsi un complexe avec l'albumine pour le transport dans le sang de la rate vers le foie. Dans le foie, la bilirubine est conjuguée avec l'acide glucuronique et les glucuronides de la bilirubine solubles dans l'eau ainsi formés sont excrétés via les canaux biliaires.

L'hyperbilirubinémie peut être provoquée par l'augmentation de la production de bilirubine due à une hémolyse (ictère pré-hépatique), par des atteintes du parenchyme hépatique (ictère intra-hépatique) ou par l'occlusion des canaux biliaires (ictère post-hépatique). Une hyperbilirubinémie chronique congénitale (essentiellement non conjuguée) appelée syndrome de

Gilbert est relativement fréquente dans la population. Des concentrations élevées de bilirubine totale sont observées chez 60 à 70% des nourrissons ; elles sont dues à une augmentation de la dégradation postpartale des érythrocytes et à un retard de fonctionnement des enzymes responsables de la dégradation de la bilirubine. Les méthodes actuelles permettent de détecter la bilirubine totale ou directe. Le dosage de la bilirubine directe mesure principalement le taux de bilirubine conjuguée, soluble dans l'eau. Par conséquent, la bilirubine non conjuguée peut être considérée comme étant égale à la différence entre la bilirubine totale et la bilirubine directe.

Méthode (3)

Test photométrique utilisant la 2,4-dichloroaniline (DCA). La bilirubine directe en présence de 2,4-dichloroaniline diazotée forme un composé azo de couleur rouge dans une solution acide. Un mélange spécifique de détergents permet de doser la bilirubine totale de manière précise.

Réactifs

ABX Pentra Bilirubin, Total CP est prêt à l'emploi.

Réactif 1 :

Tampon de phosphate	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L

Réactif 2 :

2,4-Sel de dichlorophényle- diazonium	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L

ABX Pentra Bilirubin, Total CP doit être utilisé conformément à la présente notice. Le fabricant ne peut

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

garantir son efficacité si ces conditions ne sont pas respectées.

Manipulation

1. Retirer les deux bouchons de la cassette.
2. En cas de présence de mousse, la retirer en utilisant une pipette en plastique.
3. Placer la cassette dans le compartiment réactif réfrigéré.

Calibrant

Pour la calibration, utiliser :

ABX Pentra Multical (A11A01652) (non inclus)
10 x 3 mL (lyophilisat)

Contrôle

Pour le contrôle qualité interne, utiliser :

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)

Chaque contrôle doit être testé quotidiennement et/ou après chaque calibration.

La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

Matériels nécessaires mais non fournis

- Analyseur de biochimie : Pentra C400
- Étalon : **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Contrôles :
ABX Pentra N MultiControl (1300054414)
ABX Pentra P MultiControl (1300054415)
- Equipement standard de laboratoire.

Échantillon

Cet appareil est destiné au test de la population générale.

- Sérum.
- Plasma recueilli sur héparine de lithium.

Les anticoagulants ne figurant pas dans cette liste n'ont pas été testés par HORIBA Medical. Par conséquent, leur utilisation avec ce dosage n'est pas recommandée.

Stabilité (1, 4) :

- De 20 à 25°C : 1 jour
- De 4 à 8°C : 7 jours
- À -20°C : 6 mois (en cas de congélation immédiate)

Ne congeler qu'une seule fois !

Éliminer les échantillons contaminés.

Il est primordial de conserver l'échantillon à l'abri de la lumière !

Dans le cas d'une exposition au soleil intensive, diminution de la bilirubine totale de 30% maximum après 1 heure.

Intervalle de référence ^a (1)

Chaque laboratoire doit établir ses propres intervalles de référence. Les valeurs mentionnées dans cette notice sont uniquement données à titre indicatif.

	[mg/dL]	[µmol/L]
Nouveaux-nés (ne pas utiliser aux États-Unis) :		
24 heures	< 8,7	< 150
2ème jour	1,3 - 11,3	22 - 193
3ème jour	0,7 - 12,7	12 - 217
4ème - 6ème jour	0,1 - 12,6	2 - 216
Adultes :	0,1 - 1,2	1,7 - 21

La sensibilité et la spécificité cliniques, de même que la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative, ne sont généralement pas reportées pour cet analyte. Cela s'explique car l'analyte n'est pas l'unique indicateur de l'application prévue et du choix du traitement pour le patient. Pour obtenir un diagnostic et un traitement, les résultats issus d'autres tests chimiques cliniques de routine doivent être exploités en conjonction avec d'autres informations diagnostiques ainsi que l'évaluation

^aModification : modification d'intervalle de référence.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

de l'état de santé du patient par un professionnel de santé.

Conservation et stabilité

Stabilité avant ouverture :

Stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette s'il est stocké entre 2-8°C.

Stabilité après ouverture :

Se référer au paragraphe « Performances sur Pentra C400 ».

Ne pas congeler.

Traitement des déchets

Se référer à la législation locale en vigueur.

Précautions générales ^b

- Réactif de diagnostic *in vitro*, à usage professionnel uniquement.
Destiné à une utilisation en laboratoire.
- Réservé à l'usage prescriptif.
- Ce réactif est classé comme dangereux conformément aux réglementations (CE) n° 1272/2008.

■ Réactif 1 et 2 (R1 et R2) :

Danger

H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

P234 : Conserver uniquement dans le récipient d'origine.

P260 : Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P264 : Se laver les mains soigneusement après manipulation.

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P301 + P330 + P331 : EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. Ne PAS faire vomir.

P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].

P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : Transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P310 : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P390 : Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle n'attaque les matériaux environnants.

P405 : Garder sous clef.

P501 : Éliminer le contenu et le récipient en conformité avec toutes réglementations locales, régionales, nationales, et internationales.

■ Réactif 1 (R1) :

H400 : Très toxique pour les organismes aquatiques.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.

P391 : Recueillir le produit répandu.

Contient : Acide hydrochlorique et bromure de cétrimonium.

■ Réactif 2 (R2) :

Contient : Acide hydrochlorique et dodécane-1-ol, éthoxylé.

- Respecter les précautions d'emploi standard du laboratoire.

- Les cassettes de réactifs sont à usage unique et leur mise aux déchets doit être effectuée conformément aux législations locales en vigueur.

^bModification : modification de précautions générales.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

- Se référer à la MSDS associée au réactif.
- Ne pas utiliser le produit en cas de trace visible de détérioration biologique, chimique ou physique.
- Ne pas utiliser le produit si les conditions de stockage – y compris la température – ne sont pas respectées.
- L'utilisateur doit être formé par un représentant HORIBA Medical avant d'utiliser l'appareil.
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur de vérifier si ce document est applicable au réactif utilisé.
- Pour toute assistance technique, veuillez contacter le +33 (0)4 67 14 15 16.
- Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente du pays dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

Performances sur Pentra C400

Variabilité d'un lot à l'autre ^c

La récupération des échantillons (sérum et plasma) réalisée lors de la libération en CQ de trois lots de réactif consécutifs indique que la variabilité d'un lot à l'autre entre dans les valeurs spécifiées :

Valeur de l'échantillon	Spécification
< 20 µmol/L	< 2 µmol/L
> 20 µmol/L	< 10%

Sérum, plasma

Les performances présentées ci-dessous sont représentatives des performances obtenues sur les systèmes HORIBA Medical.

Nombre de tests : 130 tests

Si le nombre de tests demandés est faible et que l'utilisateur de l'analyseur Pentra C400 a l'intention d'utiliser la cassette au maximum de la stabilité des réactifs embarqués, HORIBA Medical recommande d'utiliser le consommable XEC232 (membrane de kit) pour effectuer le nombre de tests indiqués dans la présente notice.

Stabilité du réactif embarqué

Une fois ouverte, la cassette de réactif placée dans le compartiment réfrigéré de l'analyseur Pentra C400 est stable pendant 25 jours.

Volume d'échantillon : 8 µL/test

Limite de détection

La limite de détection, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) est égale à 1,49 µmol/L (0,09 mg/dL).

Limite de détermination quantitative

La limite de détermination quantitative, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) est égale à 2,4 µmol/L (0,14 mg/dL).

Exactitude et précision

Répétabilité (précision intra-série)

Répétabilité selon les recommandations du protocole Valtec (6) les échantillons étant testés 20 fois :

- 2 contrôles
- 5 échantillons (concentration basse / moyenne / haute)

	Moyenne µmol/L	Moyenne mg/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	16,6	1,0	2,14
Échantillon de contrôle 2	87,6	5,1	0,99
Échantillon 1	10,3	0,6	3,09
Échantillon 2	14,6	0,9	2,23
Échantillon 3	37,7	2,2	1,33
Échantillon 4	142,8	8,4	0,83
Échantillon 5	312,0	18,7	0,51

Reproductibilité (précision totale)

Reproductibilité suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS) EP5-A2 (7), les échantillons étant testés en double pendant 20 jours (2 séries par jour) :

- 2 contrôles
- 3 échantillons (concentration basse / moyenne / haute)

	Moyenne µmol/L	Moyenne mg/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	16,9	1,0	4,04
Échantillon de contrôle 2	94,1	5,5	1,70
Échantillon 1	13,6	0,8	5,97
Échantillon 2	49,0	2,9	2,78
Échantillon 3	156,1	9,1	2,20

^cModification : spécification de variabilité d'un lot à l'autre ajoutée.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Intervalle de mesure

Le dosage a confirmé un intervalle de mesure de 2,4 µmol/L (0,2 mg/dL) à 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL). L'intervalle de mesure est étendu à 1350,0 µmol/L (79,0 mg/dL) avec la post-dilution automatique. La linéarité du réactif a été évaluée jusqu'à 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL) conformément aux recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (8).

Corrélation (échantillons adultes)

Échantillons de patients : Sérum
 Nombre d'échantillons de patients : 101
 Des échantillons ont été dosés comparativement à un réactif vendu dans le commerce pris comme référence en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP09c (9).
 Les valeurs étaient comprises entre 5,75 µmol/L (0,34 mg/dL) et 441,90 µmol/L (25,85 mg/dL).
 L'équation de la droite d'allométrie obtenue en utilisant la méthode de régression de Passing-Bablok (10) est :
 $Y = 1,024 X - 2,402$ (µmol/L)
 $Y = 1,024 X - 0,1405$ (mg/dL)
 avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,995$.

Corrélation (échantillons nouveaux-nés (ne pas utiliser aux États-Unis))

Échantillons de patients : sérum
 Nombre d'échantillons de patients : 111
 Des échantillons ont été dosés comparativement à un réactif vendu dans le commerce pris comme référence en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP09c (9).
 Les valeurs étaient comprises entre 3,40 µmol/L (0,20 mg/dL) et 432,75 µmol/L (25,32 mg/dL).
 L'équation de la droite d'allométrie obtenue en utilisant la méthode de régression de Passing-Bablok (10) est :
 $Y = 0,953 X + 0,2755$ (µmol/L)
 $Y = 0,953 X + 0,01612$ (mg/dL)
 avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,992$.

Interférences ^d

Hémoglobine : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 290 µmol/L (500 mg/dL).
 Triglycérides : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de triglycérides de 4,40 mmol/L (385 mg/dL).
 Acide ascorbique : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 340 µmol/L (5,98 mg/dL).

Ibuprofène : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 2,43 mmol/L (50,10 mg/dL).
 Acétaminophène : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 1324 µmol/L (20 mg/dL).
 Acide acétylsalicylique : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 3,62 mmol/L (65 mg/dL).
 N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) : Pas d'interférence significative observée jusqu'à une concentration de 250 µmol/L (3,73 mg/dL).
 Eltrombopag : Pas d'interférence significative observée jusqu'à une concentration de 30 mg/dL.

D'autres limitations sont données par Young comme une liste de médicaments et variables préanalytiques connus pour affecter cette méthodologie (11, 12).

Stabilité de la calibration

Le réactif est calibré à J0. La stabilité de la calibration est vérifiée en testant 2 échantillons de contrôle. La stabilité de la calibration est de 10 jours.
Remarque : il est recommandé d'effectuer une nouvelle calibration après chaque changement de lots de réactifs ou lorsque les résultats du contrôle de qualité sont en dehors de l'intervalle établi.

Facteur de conversion

µmol/L x 0,585 = mg/L
 µmol/L x 0,0585 = mg/dL

Bibliographie

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 1125-1177.
3. Rand RN, Di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) **6**: 570-8.
4. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.

^dModification : modification d'interférences.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

5. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
6. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
7. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
8. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
9. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
10. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
12. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.