

Utilisation

Pour la détermination quantitative de la bilirubine directe dans le sérum à l'aide des analyseurs Yumizen C230 et Yumizen C240. Pour diagnostic *in vitro* uniquement. **A usage médical uniquement.**

Historique

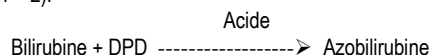
Depuis l'introduction de la méthode diazo pour la détermination de la bilirubine par Ehrlich en 1883,¹ plusieurs modifications ont été proposées pour améliorer la réaction. La méthode Malloy et Evelyn² utilise du méthanol pour catalyser la réaction de couplage azoïque de la bilirubine indirecte, ainsi que pour maintenir l'azobilirubine en solution. Un inconvénient sérieux de cette méthode réside dans le fait que les protéines peuvent être précipitées par la solution de méthanol pour donner des résultats faussement abaissés.

En 1938, Jendrassik et Grof.³ ont présenté un test qui a donné des résultats fiables. La méthode est cependant lourde et comporte plusieurs étapes de pipetage.

La méthode présentée ici a été développée par Wahlefeld et Al.⁴ Le réactif diazo est le tétrafluoroborate de 2,5-dichlorophényldiazonium (DPD) qui réagit très rapidement en couplage avec la bilirubine dans des conditions acides. La procédure résultante est simple, mais présente une bonne corrélation par rapport à la méthode de Jendrassik et Grof.

Principe

La bilirubine directe est couplée à un sel de diazonium (DPD) en milieu fortement acide (pH 1 – 2).



L'intensité de la couleur de l'azobilirubine produite est proportionnelle à la concentration directe de bilirubine et peut être mesurée photométriquement.

Réactifs

- Réactif direct de bilirubine R1 : tampon acide 50 mmol/L
- Réactif direct de bilirubine R2 : tampon acide >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD et stabilisants

Précautions

- Les réactifs sont toxiques et corrosifs. Ne pas pipeter par la bouche. Évitez tout contact avec la peau et les vêtements.
- Ce réactif est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.

Préparation du réactif

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Stockage des réactifs

- Les réactifs emballés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C. Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette lorsqu'il est stocké conformément au mode d'emploi.
- Ne pas congeler les réactifs.
- Évitez l'exposition directe à la lumière directe du soleil.

Détérioration du réactif

- Ne pas utiliser si les réactifs présentent des signes de contamination microbienne (turbidité).
- Si le R2 développe une très légère précipitation qui se dissout à nouveau lorsque le R2 est réchauffé doucement, le réactif peut être utilisé.
- Le réactif R2 contenant un précipité qui ne se dissout pas à nouveau et entraîne une décoloration du produit ne doit pas être utilisé.
- Ne pas utiliser si le réactif n'atteint pas les valeurs de dosage assignées aux sérums témoins frais.

Prélèvement et stockage des échantillons

- Un sérum frais et non hémolysé est recommandé.⁵
- Les échantillons doivent être analysés dans les deux heures suivant le prélèvement s'ils sont conservés à température ambiante dans l'obscurité

et dans les douze heures s'ils sont conservés au réfrigérateur (2 à 8 °C) et à l'abri de la lumière.⁶

- La bilirubine dans le sérum est stable pendant trois mois lorsqu'elle est conservée congelée (-20 °C) et à l'abri de la lumière.⁶
- La lumière directe du soleil peut entraîner une diminution de 50% de la bilirubine en une heure.⁷
- Le prélèvement d'échantillons doit être effectué conformément à la NCCLS M29-T2. Aucune méthode ne peut offrir une assurance complète que les échantillons de sang humain ne transmettront pas l'infection. Par conséquent, tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Interférences

- Toutes les études d'interférence ont été réalisées conformément aux procédures recommandées dans la ligne directrice EP7-P du NCCLS pour les essais d'interférence en chimie clinique.⁸
- Les taux d'hémoglobine sérique jusqu'à 100 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
- Les triglycérides sériques jusqu'à 500 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
- Un certain nombre de médicaments et de substances affectent les résultats de la bilirubine. Voir Young et al.⁹

Matériaux fournis

Réactifs directs de bilirubine R1 et R2

Matériel requis mais non fourni

- Analyseur Yumizen C230 / Yumizen C240.
- Manuel utilisateur Yumizen C230 / Yumizen C240.
- Calibrateur Pointe Chemistry, numéro de catalogue C7506-50
- Contrôle Pointe Chemistry, numéro de catalogue C7592-100

Paramètres test

Test:	DBIL	Chemistry:	Direct Bilirubin
Chemistry No.:	205	Print Name:	Direct Bilirubin
Reaction Type:	Endpoint	Reaction Direction:	Positive
Pri. Wave:	546 nm	Sec. Wave:	670 nm
Decimal.:	0.1	Samp. Type:	Serum
Blank Time:	-2 -1	Reaction Time:	18 19
Unit:	mg/dL	Incubation Time:	3

	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard;	4	uL	uL	180	uL uL
Decreased;		uL	uL	47	
Increased;		uL	uL	uL	

Linearity Range (Standard);	1.0-10	Linearity Limit:	
Linearity Range (Decreased):		Substrate Depletion:	
Linearity Range (Increased):		Mixed Blank Abs.:	- 40000 40000
R1 Blank Abs.:	- 40000 40000	On-board Stability:	30 Day (s)
Blank Response	- 40000 40000	Reagent Alarm Limit:	5
Twin Chemistry:			

Prozone Check:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Use Qualitative Result:	
Range:	Flag:

Pointe Bilirubine directe Kit réactifs

Slope Offset:	Slope 1	Offset 0	Unit mg/dL
---------------	------------	-------------	---------------

Pretreatment:			
Pretreat Sample Vol.:	uL	Pretreat Reagent Vol.:	uL

Ref. Range:			
Sample Type:	Gender:	Age Range:	Ref. Range: Critical Range: Unit:

Paramètres d'étalonnage

Chem:	D. Bili						
Calibration Setting	Math Model:	Factor:	Replicates:	Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.
	Two-Point Linear		2	Water	0.0	W	
Acceptance Limits	Cal Time:	Slope Diff:	SD:	Chem Cal	*	*	
	336 hr.	Sensitivity:	Repeatability:				
		Deter Coeff:	* User Defined				
Auto Calib.	<input type="checkbox"/> Cal Time						

Calibration

Utilisez un calibrateur de sérum traçable par le NIST. Suivez les instructions d'application de l'instrument pour l'étalonnage. Reportez-vous aux instructions du manuel utilisateur de l'instrument pour connaître les procédures d'étalonnage et la fréquence. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine sa propre fréquence d'étalonnage.

Contrôle qualité

La validité de la réaction doit être surveillée par l'utilisation de sérums témoins avec des valeurs normales et anormales connues de bilirubine directe. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque période de travail au cours duquel des dosages directs de bilirubine sont effectués. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination du contrôle. Les exigences de contrôle de la qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, nationales et/ou régionales ou aux exigences d'accréditation.

Calculs (Exemple)

Abs. = Absorbance
Unk. = Inconnu
Cal. = Calibreur

$$\frac{\text{Abs. Unk.} - \text{Abs. Unk. Blank}}{\text{Abs. Cal.} - \text{Abs. Cal. Blank}} \times \text{Conc. of Cal. (mg/dl)} = \text{Direct Bilirubin (mg/dl)}$$

Échantillon: Si abs. d'inconnu = 0,35, abs. d'essai d'étalonneur = 0,01, concentration de calibreur = 4,0 mg/dl

Alors:
$$\frac{0,35 - 0,01}{0,25 - 0,01} \times 4 = \frac{0,34}{0,24} \times 4 = 5,7 \text{ mg/dl}$$

Valeurs attendues (directe)^{7,11}

Adultes et nourrissons (plus d'un mois): 0 – 0,5 mg / dl

Il est fortement recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage normale.

Limites

1. Les échantillons dont les valeurs sont supérieures à 10 mg/dl doivent être dilués 1:1 avec une solution saline isotonique, redosés et la réponse finale multipliée par deux.
2. Les taux sériques d'hémoglobine allant jusqu'à 100 mg / dl et de triglycérides jusqu'à 500 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.

Performance

1. Linéarité : 10,0 mg/dl
2. Limite de détection (sensibilité) : 0,1 mg / dl
3. Comparaison : Une étude a été réalisée entre les analyseurs de la série Yumizen 200 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a donné un coefficient de corrélation de 0,999 avec une équation de régression de $y = 0,985x - 0,12$.
4. Précision : Des études de précision ont été réalisées à l'aide des analyseurs de la série Yumizen 200 à la suite d'une modification des lignes directrices contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS.¹⁰

Sur une journée			Au quotidien		
Moy	S.D.	C.V.%	Moy	S.D.	C.V.%
0.48	0.05	10.1	0.39	0.05	12.8
1.92	0.09	4.5	1.91	0.11	5.8

Références

1. Ehrlich, P., Charite Ann. 8:140(1883).
2. Malloy, H.T., Evelyn, K.A., J. Biol. Chem. 119:481 (1937).
3. Jendrassik, L., Grof, P., Biochem. Zeitschr. 297:81 (1938).
4. Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest. 29 Supplement 126(1972).
5. Michaelsson, M. Scand. J. Clin. Lab. Invest (Suppl. 49) 13:1 (1961)
6. Martinek, R.G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
7. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, P. 1028 (1976).
8. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
9. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
10. NCCLS document, "Evaluations of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
11. Gambino, S.R., et al, Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education, Am. Soc. of Clin. Path., Chicago, (1968).

Symboles

Use by (YYYY-MM-DD)	LOT Lot and batch code
REF Catalog number	Manufacturer
IVD In vitro diagnostic medical device	Temperature limitation
Consult instructions for use	Rx Only: Prescription Use Only
CE mark	EC REP Authorized representative in the European Community

REF 12-HB936-156

Manufactured by
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



IVD

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Pointe Bilirubine directe Kit réactifs

Réactifs certifiés

Les réactifs Pointe sont certifiés pour être fabriqués selon des paramètres spécifiés.
Tout produit réactif Pointe ne répondant pas aux spécifications jusqu'à la date
d'expiration indiquée sera corrigé immédiatement et sans frais..

Rev. 11/23 P803-HB936-MIN-FR
