

Utilisation

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

Historique

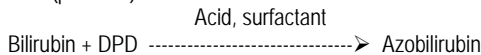
Depuis l'introduction de la méthode diazo pour la détermination de la bilirubine par Ehrlich en 1883¹, plusieurs modifications ont été proposées pour améliorer la réaction. La méthode Malloy et Evelyn² utilise du méthanol pour catalyser la réaction de couplage azoïque de la bilirubine indirecte, ainsi 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 Un détergent est utilisé pour accélérer la réaction et éviter la précipitation des protéines. 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 totale 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 totale de bilirubine et peut être mesurée photométriquement.

Réactifs

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

Préparation du réactif

Réactifs fournis sous forme de liquides prêts à l'emploi.

Stockage des réactifs

- Les réactifs emballés sont stockés entre 2 et 8 °C. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés conformément aux directives.
- 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 (turbidité)
- Le R2 peut développer de très légères précipitations qui n'affectent pas les performances et se dissoudra à nouveau si le R2 est réchauffé doucement.
- 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.

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*.

Prélèvement et stockage des échantillons

- Un sérum frais et non hémolysé est recommandé.

- 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.⁵
- La bilirubine dans le sérum est stable pendant trois mois lorsqu'elle est conservée congelée (-20 °C) et à l'abri de la lumière.⁵
- La lumière directe du soleil peut entraîner une diminution de 50% de la bilirubine en une heure.⁶
- 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.⁷
- Les taux sériques d'hémoglobine jusqu'à 500 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
- Les triglycérides sériques jusqu'à 1000 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 coll.⁸

Matériaux fournis

- Réactif R1a bilirubine totale
- Réactif R2 de bilirubine totale

Matériels requis mais non fourni

- Analyseur Yumizen C230 / Yumizen C240
- Yumizen C230 / Yumizen C240 Manuel d'utilisation
- Calibrateur Pointe Chemistry, numéro de catalogue C7506-50
- Contrôle Pointe Chemistry, numéro de catalogue C7592-100

Paramètres de test

Test:	TBIL	Chemistry:	Total Bilirubin
Chemistry No.:	207	Print Name:	Total Bilirubin
Reaction Type:	Endpoint	Reaction Direction:	Positive
Pri. Wave:	546 nm	Sec. Wave:	630 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:	3	uL	uL	180	uL uL
Decreased:		uL	uL	47	uL uL
Increased:		uL	uL	uL	

Linearity Range (Standard):	0.1-30	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:

Pointe Total Bilirubin Reagent Set

Range: Flag:

Slope Offset:			
Slope	Offset	Unit	
1	0	mg/dL	

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

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

Calibration Setup Parameters

Chem: T. Bili	Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.
Calibration Setting	Water	0.0	W	
Math Model: Two-Point Linear	Chem Cal	*	*	
Factor: Replicates: 2				
Acceptance Limits				
Cal Time: 168 hr.				
Slope Diff: SD:				
Sensitivity: Repeatability:				* User Defined
Deter Coeff:				
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 de l'instrument pour connaître les procédures d'étalonnage et la fréquence. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine sa propre fréquence d'étalonnage.

Calculs (Exemple)

Abs. = Absorbance

Unk. = Inconnu

Cal. = Calibrateur

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

Échantillon: Si abs. d'inconnu = 0,35, abs. d'blanc inconnu = 0,01, abs. de calibrateur = 0,25, abs. d'essai d'étalonneur = 0,01, concentration d'étalonneur = 5,0 mg/dl

$$\text{Then: } \frac{0.35 - 0.01}{0.25 - 0.01} \times 5 = \frac{0.34}{0.24} \times 5 = 7.1 \text{ mg/dl}$$

Contrôle qualité

La validité de la réaction doit être surveillée par l'utilisation de sérums témoins dont les valeurs de bilirubine totale sont normales et anormales connues. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque quart de travail au cours duquel des dosages de bilirubine totale 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, étatiques et / ou fédérales ou aux exigences d'accréditation.

Limites

- Les échantillons dont la valeur est supérieure à 30 mg/dl doivent être dilués 1 :1 avec une solution saline isotonique, redosés et la réponse finale multipliée par deux.

- Les taux sériques d'hémoglobine jusqu'à 500 mg / dl et les triglycérides jusqu'à 1000 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.

Performance

- Linéarité : 30,0 mg/dl
- Limite de détection (sensibilité): 0,15 mg / dl
- 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 $y = 0,902x + 0,02$.
- 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.⁹

Within Day			Day to Day		
Mean	S.D.	C.V.%	Mean	S.D.	C.V.%
0.84	0.08	10.1	0.67	0.04	6.0
5.99	0.14	2.4	5.98	0.25	4.2

Valeurs attendues¹⁰

Total : Adultes et nourrissons de plus de 1 mois : 0,2 –1,0 mg/dl

Enfants: Nouveau-né à terme

Jusqu'à 24 heures : 2.0-6.0 mg/dl

Jusqu'à 48 heures : 6.0-10.0 mg/dl

Days 3-5: 4.0-8.0 mg/dl

Références

- Ehrlich, P., Charite Ann. 8:140 (1883).
- Malloy, H.T., Evelyn, K.A., J. Biol. Chem. 119:481 (1937).
- Jendrassik, L., Grof, P., Biochem. Zeitschr. 297:81 (1938).
- Wahlefeld AW, et al. Scand J Clin Lab Invest. 29 Supplement 126(1972).
- Martinek, R.G., Clin. Chim. Acta 13:161 (1966).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.1028 (1976).
- NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
- Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).
- Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, 3rd Ed., p. 1170 (1999)

Symboles

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

REF 12-HB979-192 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 Total Bilirubin Reagent Set

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 sa date d'expiration indiquée sera corrigé immédiatement sans frais.

Rev. 11/23

P803-HB979-MIN-FR
