

Utilisation

Pour la détermination quantitative de la bilirubine directe dans le sérum à l'aide de l'analyseur Yumizen C560. **A usage médical uniquement.**

Historique

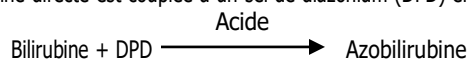
Depuis l'introduction de la méthode diazo pour la détermination de la bilirubine par Ehrlich en 1883,¹ plusieurs modifications ont été proposées pour améliorer la réaction. La méthode Malloy et Evelyn² utilise du méthanol pour catalyser la réaction de couplage azoïque de la bilirubine indirecte, ainsi 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 Bilirubin R1 : tampon acide 50 mmol/L, réactif Direct Bilirubin R2 : tampon acide >30 mmol/L, >2,0 mmol/L DPD et stabilisants

Précautions et dangers

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

Risques :

R1 et R2 : Classifications de danger : corrosion/irritation cutanée (catégorie 1), lésions oculaires graves/irritation oculaire (catégorie 1)

Mentions de danger : H314 : Provoque de graves brûlures cutanées et des lésions oculaires, H318 : Provoque une irritation oculaire grave.

Conseils de prudence : **Prévention** : P260 : Ne pas respirer de poussière/fumée/gaz/brouillard/vapeur/pulvérisation. P264 : Laver soigneusement la

peau après manipulation. P280 : Porter des gants de protection/vêtements de protection/protection oculaire/protection faciale. **Réponse** : P310 :

Appelez immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P363 : Laver les vêtements contaminés avant de les réutiliser.

P301+P330+P331 : En cas d'ingestion : Rincer la bouche. Ne provoquez PAS de vomissements. P303+P361+P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC

LA PEAU (ou de cheveux) : Enlevez/enlevez immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la PEAU avec de l'eau/douche. P304+P340 :

EN CAS D'INHALATION : Amener la victime à l'air frais et la maintenir au repos dans une position confortable pour respirer. P305+P351+P338 : SI CONTACT AVEC LES

YEUX : Rincer prudemment à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirez les lentilles de contact, si elles sont présentes et faciles à enlever. Continuer à rincer. **Stockage** :

P404 : Conserver dans un récipient fermé. **Élimination** : P501 : Éliminer le contenu dans le réseau d'égout après dilution avec de grands volumes d'eau, si cela est conforme

à la réglementation locale. **Reportez-vous à la fiche de données de sécurité de ce produit (SDS-HB936) disponible en composant le 1-734-487-8300.**



Préparation du réactif

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Stockage et stabilité des réactifs

1. 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.
2. Des études menées par des fabricants ont montré que le réactif est stable pendant 30 jours une fois placé dans le carrousel de réactifs réfrigérés (2-10 °C), mais la stabilité du réactif peut varier en fonction des conditions de laboratoire individuelles.
3. Ne pas congeler les réactifs.
4. Évitez l'exposition directe à la lumière directe du soleil.

Détérioration du réactif

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

Prélèvement et stockage des échantillons

1. Un sérum frais et non hémolysé est recommandé.⁵
2. 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
3. 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
4. La lumière directe du soleil peut entraîner une diminution de 50% de la bilirubine en une heure.⁷
5. 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.

Pointe Bilirubine directe Kit réactifs

Interférences

1. 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
2. Les taux d'hémoglobine sérique jusqu'à 66 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
3. Les triglycérides sériques jusqu'à 500 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
4. Un certain nombre de médicaments et de substances affectent les résultats de la bilirubine. Voir Young et al⁹.

Matériaux fournis

Réactifs directs de bilirubine R1 et R2

Matériel requis mais non fourni

1. Analyseur Yumizen C560.
2. Manuel utilisateur Yumizen C560.
3. Calibrateur de chimie, numéro de catalogue C7506-50
4. Contrôle de chimie, numéro de catalogue C7592-100

Calibration

Utilisez le calibrateur Pointe Chemistry (numéro de catalogue C7506-50). Suivez les instructions d'application de l'instrument pour l'étalonnage. Reportez-vous aux manuels utilisateurs de l'instrument pour connaître les procédures d'étalonnage et la fréquence. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine sa propre fréquence d'étalonnage. S'il s'avère que les résultats des contrôles sont hors de portée, il peut être nécessaire de réétalonner l'essai. Dans des conditions de fonctionnement typiques, les études de stabilité de l'étalonnage du fabricant ont montré que la courbe d'étalonnage sera stable pendant au moins 14 jours.

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, étatiques et / ou fédérales ou aux exigences d'accréditation.

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 66 mg / dl et de triglycérides jusqu'à 500 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.

Performance

1. Gamme de dosage : 0.0-10.0 mg / dl
2. Comparaison : Une étude a été réalisée entre le Yumizen C560 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a donné les résultats suivants :

Méthode	Bilirubine Direct
N	135
Moyenne Bilirubine d Direct (mg/dL)	1.625
Plage de valeurs (mg/dL)	0.00-9.20
Ecart-type	2.472
Equation de régression	$y = 1.097x - 0.065$
Coefficient de corrélation	0.9912

3. Précision : Des études de précision ont été réalisées à l'aide de l'analyseur Yumizen C560 à la suite d'une modification des lignes directrices contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS.¹⁰

Echantillon	Au quotidien		
	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20
Moyenne	0.74	5.08	9.80
Ecart-type	0.05	0.04	0.00
Coefficient de Variation (%)	6.8%	0.8%	0.0%

Echantillon	Total		
	LOW	MID	HIGH
N	40	40	40
Moyenne	0.77	5.08	9.79
Ecart-type	0.04	0.18	0.26
Coefficient de Variation (%)	6.6%	4.8%	2.7%

4. Sensibilité : 2SD Limite de détection (95% Conf) = 0,0 mg / dl

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).

PARAMETRES CHIMIE

Chem:	DBIL	No.:	205	Sample Type:	Serum
Chemistry:	Direct Bilirubin	Print Name:	DBIL	Reaction Direction:	Positive
Reaction Type:	End Point	Pri Wave:	546	Sec Wave:	660
Unit:	mg/dL	Decimal:	0.1	Reaction Time:	80 82
Blank Time:	47 49	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.
Standard:	2.7 ul	---	ul	---	ul
Decreased:	---	ul	---	ul	---
Increased:	---	ul	---	ul	---
	<input type="checkbox"/> Sample Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Rerun			

Slope/Offset Adjustment

Slope: 1 Offset: 0

Linearity Range (Standard)	0	10	Linearity Limit:
Linearity Range (Decreased)	_____	_____	Substrate Depletion:
Linearity Range (Increased)	_____	_____	Mixed Blank Abs:
R1 Blank Abs:	_____	_____	Uncapping Time
Blank Response:	_____	_____	Reagent Alarm Limit:
Twin Chemistry:			<input type="checkbox"/> Enzyme Linear Extension
<input type="checkbox"/> Prozone Check		<input type="radio"/> Rate Check	<input type="radio"/> Antigen Addition
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Pointe Bilirubine directe Kit réactifs

PARAMETRES D'ETALONNAGE

Calibrator Definition						
Calibrator:	*	Lot No.:			*	
Exp Date:	*					
Carousel		Pos				
Sample Carousel 1	*					
Sample Carousel 2						
Sample Carousel 3						
Reagent/Calibration						
<u>Calibrator</u>	<u>Pos</u>	<u>Lot No</u>	<u>Exp Date</u>	<u>Chem</u>	<u>Conc</u>	<u>Unit</u>
Water	W	*	*	DBIL	0	mg/dL
Chemistry Calibrator	*	*	*	DBIL	*	mg/dL
Calibration Setup						
Chem:	DBIL					
Calibration Settings						
Math Model:	Two-Point Linear					
Factor:		Replicates:	2			
Acceptance Limits						
Cal Time:	336	Hour				
Slope Diff:	---	SD:	---			
Sensitivity :	---	Repeatability:	---			
Deter Coeff:	---					
Auto Calib.						
<input type="checkbox"/> Bottle Changed	<input type="checkbox"/> Lot Changed	<input type="checkbox"/> Cal Time				

Il est recommandé que deux niveaux de matériel témoin soient analysés quotidiennement. * Indique un paramètre défini par l'utilisateur.

REF 14-HB936-200



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



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.

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



Symboles



Use by (YYYY-MM-DD)



Lot and batch code



Catalog number



Manufacturer



Temperature limitation



Consult instructions for use



In vitro diagnostic medical device Rx Only: Prescription Use Only