

Utilisation

Détermination quantitative de la bilirubine totale dans le sérum à l'aide de l'analyseur Yumizen C560. A usage médical uniquement.

Historique

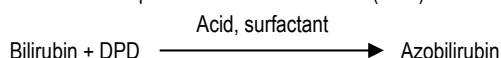
Depuis l'introduction de la méthode diazo pour la détermination de la bilirubine par Ehrlich en 1883¹, plusieurs modifications ont été proposées pour améliorer la réaction. La méthode Malloy et Evelyn² utilise du méthanol pour catalyser la réaction de couplage azoïque de la bilirubine indirecte, ainsi 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 obtenir 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 R1 de bilirubine 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 liquide prêts à l'emploi.

Stockage et stabilité des réactifs

1. 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.
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 (turbidité)
2. 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.
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 pour les sérums témoins frais.

Précautions

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 : Si VERSÉ :

Rincer la bouche. Ne provoquez PAS de vomissements. P303+P361+P353 : EN CAS DE 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 DANS LES YEUX : Rincer prudemment à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirez les lentilles cornéennes, si

elles sont présentes et faciles à faire. Poursuivre le rinçage. 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-HB979)

disponible en composant le 1-734-487-8300.

Prélèvement et stockage des échantillons

1. Un sérum frais et non hémolysé est recommandé.
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.⁵
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.⁵
4. La lumière directe du soleil peut entraîner une diminution de 50% de la bilirubine en une heure.⁶
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 Total Bilirubine Reagent Set

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. ⁷
2. Il a été démontré que l'hémoglobine sérique interfère avec les résultats. Les triglycérides sériques jusqu'à 1000 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
3. Un certain nombre de médicaments et de substances affectent les résultats de la bilirubine. Voir Young et coll.⁸

Matériaux fournis

Réactif de bilirubine R1 totale, réactif de bilirubine R2 totale

Matériel requis mais non fourni

1. Analyseur Yumizen C560
2. Yumizen C560 Manuel d'utilisation
3. Calibrateur de chimie, numéro de catalogue C7506-50
4. Contrôle chimique, 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 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. 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 le temps d'étalonnage sera stable pendant au moins 7 jours.

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

1. 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.
2. Les triglycérides sériques jusqu'à 1000 mg / dl n'interfèrent pas avec les résultats.
3. Il a été démontré que les taux d'hémoglobine sérique interfèrent avec les résultats.

Performance

1. Gamme de dosage : 0.0-30.0 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 totale
N	149
Bilirubine T moyenne(mg/dL)	4.38
Gamme (mg/dL)	0.0-29.7
Écart type	7.18
Analyse de régression	$y = 0.988x + 0.12$
Coefficient de corrélation	0.9940

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. ⁹

Sample	Within Day		
	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20
Mean	0.70	4.33	21.38
Standard Deviation	0.00	0.09	0.20
Coefficient of Variation (%)	0.0%	2.1%	0.9%

Sample	Total		
	LOW	MID	HIGH
N	40	40	40
Mean	0.87	4.34	22.04
Standard Deviation	0.07	0.16	0.71
Coefficient of Variation (%)	8.3%	3.8%	3.2%

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

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

Jours 3-5: 4.0-8.0 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. Martinek, R.G., Clin. Chim. Acta 13:161 (1966).
6. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.1028 (1976).
7. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
8. Young, D.S., Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Washington DC, AACC Press, (1997)
9. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).
10. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, 3rd Ed., p. 1170 (1999)

PARAMETRES DE CHIMIE

Chem:	TBIL	No.:	207	Sample Type:	Serum
Chemistry:	Total Bilirubin			Print Name:	TBIL
Reaction Type:	End Point			Reaction Direction:	Positive
Pri Wave:	546			Sec Wave:	605
Unit:	mg/dL			Decimal:	0.1
Blank Time:	47 49			Reaction Time:	80 82
	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard:	2.0 ul	-- ul	-- ul	R1:	120 ul -- ul
Decreased:	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	31 ul -- ul
Increased:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Sample Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Rerun		R4:	-- ul -- ul
<u>Slope/Offset Adjustment</u>					
	Slope: 1	Offset: 0			

Pointe Total Bilirubin Reagent Set

PARAMETRES DE CALIBRATION

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	*	*	TBIL	0	mg/dL
Chemistry Calibrator	*	*	*	TBIL	*	mg/dL
Calibration Setup						
Chem:	TBIL					
Calibration Settings						
Math Model:	Two-Point Linear					
Factor:		Replicates:	2			
Acceptance Limits						
Cal Time:	168	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				
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:			
PC:	ABS:					

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



Pointe
Bilirubine totale
Kit de réactifs

HORIBA Instruments Incorporated

5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Phone: 734-487-8300; (800) 445-9853



REF 14-HB979-365



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 la date d'expiration indiquée sera corrigé immédiatement et 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

Rev. 11/23 P803-HB979-560-FR