

Réactif de dosage de la bilirubine totale

RÉSUMÉ DU PRODUIT

Stabilité	: Jusqu'à la péremption entre 2 °C et 8 °C
Plage linéaire	: Jusqu'à 342 µmol/l (20,0 mg/dl)
Type d'échantillon	: Sérum
Méthode	: Point final
Préparation du réactif	: Fourni prêt à l'emploi.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Pour usage diagnostique in vitro Pour la détermination quantitative de la bilirubine totale dans le sérum.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La bilirubine, un produit issu de la destruction des érythrocytes, est un pigment biliaire qui se trouve normalement dans le sang. La durée de vie moyenne des érythrocytes est de 120 jours. Leur désintégration libère environ 6 grammes d'hémoglobine par jour. Les cellules réticulo-endothéliales de la rate, du foie et de la moelle osseuse phagocytent les érythrocytes âgés et convertissent l'hémoglobine libérée en bilirubine¹. L'albumine sérique se lie à la bilirubine et la transporte vers le foie où elle est métabolisée.

Une concentration élevée en bilirubine sérique peut indiquer une altération de la fonction excrétoire du foie, une hémolyse excessive ou une obstruction du canal biliaire². L'hyperbilirubinémie peut également être associée à un ictère obstructif, un ictère hémolytique et hépatique, une hépatite infectieuse et une anémie pernicieuse.

PRINCIPE

Ce réactif est une variante de la méthode classique de Van den Bergh et Mueller³. La bilirubine totale, à la fois conjuguée et libre, est mesurée en utilisant un sel diazonium stabilisé de 3,5-dichloroaniline qui réagit avec la bilirubine pour former de l'azobilirubine avec une absorbance maximale à 540 nm. Des surfactants sont utilisés comme accélérateurs de réaction. La concentration de bilirubine présente est directement proportionnelle à l'absorbance de l'azobilirubine mesurée par spectrophotométrie à 540 nm.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Principe actif
3,5-dichlorophényldiazoniumtétrafluoroborate
Surfactants

Concentration
0,36 mmol/l



Symbole de risque : corrosion
Mention : danger

Phrases de risque

H318 Provoque des lésions oculaires graves

Conseils de prudence – Prévention

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

Conseils de prudence – Intervention

Yeux

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

Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Conseils de prudence – Stockage

Aucune

Conseils de prudence – Élimination

Aucune

Dangers non classés par ailleurs

Non applicable

Toxicité inconnue

0,01 % du mélange contient un ou plusieurs composants de toxicité inconnue

Autres informations

Provoque une légère irritation cutanée

Nocif pour les organismes aquatiques

Pour un complément d'information, se reporter à la Fiche de données de sécurité du produit.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Le réactif conservé bien fermé entre 2 °C et 8 °C est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Protéger le réactif de la lumière.

Indications de détérioration du réactif :

1. Le réactif doit être limpide, incolore à jaune pâle.
2. Une turbidité ou l'impossibilité d'obtenir les valeurs attribuées aux sérums de contrôle dosés pourrait indiquer une détérioration.

SYMBOLES SUR L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant agréé		Limite de température
	Pour usage diagnostique in vitro		Date de péremption
	Code/numéro du lot		MISE EN GARDE. Consulter le mode d'emploi.
	Référence catalogue		Fabricant
	Consulter le mode d'emploi		Corrosion

3. Si l'absorbance du réactif déterminée manuellement est supérieure à 0,100 à 540 nm, le réactif s'est peut-être détérioré et ne doit pas être utilisé.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Sérum : il est recommandé d'utiliser du sérum frais non hémolysé¹. Séparer rapidement le sérum des cellules pour minimiser l'hémolyse.

Conservation : les échantillons de sérum doivent être protégés de la lumière. L'exposition directe au soleil ou à une lumière blanche peut entraîner une diminution de 50 % de la bilirubine en une heure¹. Il est recommandé de recueillir et de traiter les échantillons selon la description du NCCLS⁴ (H3, H4, H18) ou de publications équivalentes. La bilirubine sérique conservée entre 2 °C et 8 °C est stable pendant un maximum d'une semaine et pendant environ trois mois si elle est conservée congelée et protégée de l'exposition à la lumière.¹

MATÉRIEL FOURNI

Réactif de dosage de la bilirubine totale

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

1. Thermo Data-Cal ou équivalent
2. Contrôles normaux et anormaux Thermo ou équivalents.
3. Pipettes pour distribuer avec exactitude des volumes de 1,0 ml.
4. Micropipettes pour distribuer des volumes de 0,05 ml.
5. Instrument manuel adapté étalonné pour lire à 540 nm.
6. Analyseur Hitachi 704[®] ou équivalent, avec manuel et accessoires.

PROCÉDURE DE DOSAGE

PARAMÈTRES DE L'INSTRUMENT HITACHI 704

Test	TBil
Dosage	1 POINT : 6-0
Volume échantillon	20
Volume R1	400-20-NO
Volume R2	0-20-NO
Longueur d'onde	660/546
Méthode d'étalonnage	Linéaire-0
Conc. étalon (1) - pos	0-1
Conc. étalon (2) - pos	()-2
Conc. étalon (3) - pos	()-3
Conc. étalon (4) - pos	()-4
Conc. étalon (5) - pos	()-5
Conc. étalon (6) - pos	()-6
Unité	mg/dl
Limite ET	0,1
Limite double	200
Limite sensibilité	0
Limite ABS (Augm./Dimin.)	0 (Augm.)
Limite prozone	0 (Inférieure)
Valeur attendue	0,0 à 1,5
Facteur instrument	1,00

Les paramètres ci-dessus doivent être utilisés pour programmer l'instrument Hitachi 704. Consulter le mode d'emploi de l'instrument pour obtenir d'autres instructions.

PROCÉDURE MANUELLE

1. Pour chaque échantillon, distribuer 1,0 ml de réactif de dosage de la bilirubine totale dans des tubes de test étiquetés.
2. Ajouter 0,05 ml d'étalon, de contrôle et d'échantillon dans les tubes correspondants. Mélanger immédiatement. Utiliser 0,05 ml d'eau désionisée comme échantillon dans le blanc réactif.
3. Incuber à la température de la réaction pendant 5 minutes.
4. Régler la longueur d'onde de l'instrument à 540 nm. Faire le zéro avec le blanc réactif.
5. Lire et enregistrer l'absorbance des échantillons.

BLANC ÉCHANTILLON

Des blancs échantillons sont requis pour certains échantillons troubles, ictériques et hémolysés. Ceci concerne de nombreux sérums de contrôle et étalons.

1. Pour chaque échantillon nécessitant un blanc, distribuer 1,0 ml de solution saline normale dans des tubes de test étiquetés.
2. Ajouter 0,05 ml de chaque échantillon nécessitant un blanc. Mélanger et incuber pendant 5 minutes à la température de la réaction.
3. Régler la longueur d'onde de l'instrument à 540 nm. Faire le zéro avec la solution saline normale.

4. Lire et enregistrer l'absorbance du blanc. Soustraire cette absorbance de celle de l'étape 5 dans la section Procédure manuelle. L'absorbance corrigée est utilisée dans le calcul des résultats.

STABILITÉ DU MÉLANGE RÉACTIONNEL FINAL

Le produit coloré final est stable pendant 60 minutes à température ambiante contrôlée (15 °C à 30 °C). L'analyseur Hitachi 704 lit chaque standard et échantillon en même temps.

CALCUL DES RÉSULTATS

Les résultats sont calculés automatiquement par l'analyseur Hitachi 704. Utiliser l'équation ci-dessous pour calculer la concentration en bilirubine totale dans un échantillon en cas d'utilisation de la procédure manuelle.

$$\text{Bilirubine totale} = \frac{\text{Absorbance de l'inconnu}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{Valeur de l'étalon}$$

Exemple :

Absorbance de l'inconnu = 0,052
Absorbance de l'étalon = 0,180
Valeur de l'étalon = 5,2 mg/dl

$$\text{Bilirubine totale} = \frac{0,052}{0,180} \times 5,2 = 1,5 \text{ mg/dl}$$

REMARQUE

Conversion d'unité : mg/dl x 17,1 = µmol/l.

ÉTALONNAGE

Il n'est pas nécessaire de déterminer une courbe d'étalonnage dans cette procédure, puisque la réaction est linéaire jusqu'à 342 µmol/l (20,0 mg/dl). Toutefois, un blanc réactif et un étalon doivent être testés avec chaque jeu d'échantillons inconnus dosés.

CONTRÔLE QUALITÉ

Pour assurer un contrôle qualité adéquat, un contrôle normal et un contrôle anormal disposant de valeurs dosées doivent être exécutés comme des échantillons inconnus :

- Au moins toutes les huit heures.
- Quand un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une intervention de maintenance préventive ou le remplacement d'un composant critique.

Les résultats de contrôle supérieurs à la limite supérieure ou inférieurs à la limite inférieure de la plage établie indiquent que le dosage est peut-être hors limites. Dans de telles situations, les actions correctrices suivantes sont recommandées :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats du contrôle répété sont hors limites, préparer du sérum de contrôle frais et répéter le test.
- Si les résultats sont toujours hors limites, ré-étalonner avec un étalon frais, puis répéter le test.
- Si les résultats sont toujours hors limites, réaliser un étalonnage avec du réactif frais, puis répéter le test.
- Si les résultats sont toujours hors limites, contacter les services techniques ou le distributeur local.

LIMITES

1. Voir les sections Conservation et stabilité, Détérioration, Prélèvement de l'échantillon, Substances interférentes, Conservation de l'échantillon, Stabilité du mélange réactionnel final et Linéarité pour connaître les limites de cette procédure.
2. Ne pas utiliser des étalons de bilirubine dans du chloroforme pour cette procédure qui n'emploie pas de solvants miscibles dans le chloroforme.
3. La bilirubine est extrêmement sensible à la lumière. L'étalon, le contrôle et les échantillons inconnus doivent être conservés à l'abri des sources de lumière pour une stabilité optimale.

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

1. L'hyperlipidémie n'interfère pas avec cette procédure lorsqu'elle est utilisée sur l'analyseur Hitachi 704 ou avec un instrument manuel jusqu'à 1 335 mg/dl de triglycérides.
2. Sur l'analyseur Hitachi 704, les concentrations d'hémoglobine supérieures ou égales à 83 mg/dl entraînent une interférence significative à une concentration de bilirubine de 1,1 mg/dl. Une concentration d'hémoglobine jusqu'à 398 mg/dl n'interfère pas de manière significative à une concentration de bilirubine de 5,1 mg/dl.
Avec une méthode manuelle, les concentrations d'hémoglobine supérieures ou égales à 83 mg/dl entraînent une interférence significative à une concentration de bilirubine de 1,3 mg/dl. Une concentration d'hémoglobine jusqu'à 204 mg/dl n'interfère pas de manière significative à une concentration de bilirubine de 5,3 mg/dl.
3. Young a examiné les effets de médicaments sur les concentrations de bilirubine sérique.⁵

 Fisher Diagnostics
Une division de Fisher Scientific Company, LLC
Une société de Thermo Fisher Scientific.
Middletown, VA 22645-1905 États-Unis
Téléphone : 800-528-0494
540-869-3200
Fax : 540-869-8132

EC REP WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
Pays-Bas



JL840886-fr (R0)

VALEURS ATTENDUES

PLAGE NORMALE⁶ 0,0 à 1,5 mg/dl

Les valeurs indiquées sont représentatives de la plage attendue avec cette méthode et sont uniquement destinées à servir de guide. Il est recommandé que chaque laboratoire vérifie cette plage ou calcule un intervalle de référence pour la population dont il a la charge.⁷

DONNÉES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance ont été établies sur un analyseur Hitachi 704 et en utilisant la procédure manuelle. L'utilisateur doit établir les caractéristiques de performance si le produit est utilisé sur un autre analyseur.

PRÉCISION

La reproductibilité intra-série a été déterminée en dosant trois niveaux de sérums de contrôle à 20 reprises.

Intra-série/Hitachi 704	MOYENNE	ÉCART-TYPE	% CV
BAS	0,60 mg/dl	0,00	0,00
MODÉRÉ	5,90 mg/dl	0,05	0,85
ÉLEVÉ	15,20 mg/dl	0,10	0,66

Intra-série/Manuel	MOYENNE	ÉCART-TYPE	% CV
BAS	1,0 mg/dl	0,05	5,00
MODÉRÉ	5,90 mg/dl	0,13	2,20
ÉLEVÉ	14,7 mg/dl	0,23	1,56

La reproductibilité inter-série a été déterminée en dosant trois niveaux de sérums de contrôle en tant que points isolés au cours de 10 séries sur une période de 4 jours.

Inter-série/Hitachi 704	MOYENNE	ÉCART-TYPE	% CV
BAS	0,63 mg/dl	0,07	1,11
MODÉRÉ	5,70 mg/dl	0,07	1,20
ÉLEVÉ	14,50 mg/dl	0,17	1,20

Inter-série/Manuel	MOYENNE	ÉCART-TYPE	% CV
BAS	1,1 mg/dl	0,07	6,40
MODÉRÉ	6,0 mg/dl	0,05	0,83
ÉLEVÉ	15,2 mg/dl	0,32	2,10

COMPARAISON

Les dosages Thermo de la bilirubine totale #1245 (y) et de la bilirubine totale #1240 (x) ont été comparés avec un analyseur Hitachi 704 sur 169 échantillons dans une plage de 0,1 à 19,5 mg/dl. L'équation de corrélation résultante est $y = 1,00x - 0,04$ avec un coefficient de corrélation de 0,999.

Les dosages Thermo de la bilirubine totale #1245 (y) et de la bilirubine totale #1240 (x) ont été comparés manuellement sur 167 échantillons dans une plage de 0,2 à 21,6 mg/dl. L'équation de corrélation résultante est $y = 0,99x - 0,01$ avec un coefficient de corrélation de 0,999.

LINÉARITÉ

La linéarité s'étend jusqu'à 342 µmol/l (20,0 mg/dl). Les échantillons au-delà de la linéarité doivent être dilués dans de la solution saline normale et le dosage doit être répété. Multiplier la concentration obtenue par le facteur de dilution pour le calcul de l'échantillon inconnu.

SENSIBILITÉ

En se basant sur la résolution de l'instrument Hitachi 704, A = 0,001, le réactif de dosage de la bilirubine totale Thermo a une sensibilité de 0,07 mg/dl. La sensibilité analytique est de 0,1 mg/dl.

En se basant sur la résolution de l'instrument manuel, A = 0,001, le réactif de dosage de la bilirubine totale Thermo a une sensibilité de 0,03 mg/dl. La sensibilité analytique est de 0,1 mg/dl.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 1976, p. 1028-1044.
2. Annino, J.S., Clinical Chemistry Principles and Procedures, 2e éd., Little, Brown and Company, Boston, 1960, p. 203.
3. Van den Bergh, A. and Mueller, P., Biochem. Z. 77, 1916, p. 90.
4. NCCLS: Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3), Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture (H4), Standard Procedures for Blood Specimen Processing (H18), National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, D.C., 1990, p. 3-61 - 3-72.
6. Henry, R., Cannon, D.C., and Winkelmann, J.W., Clinical Chemistry Principles and Technics, 2nd ed., Harper and Row, Hagerstown, 1974, p. 1042.
7. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2012 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. Hitachi 704 est une marque déposée de Roche Diagnostics. Toutes les autres marques de commerce sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

REF

Informations de commande de renouvellement

Réf. catalogue
1245-250

Configuration
2 x 125 ml