



N° d'ordre :  
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET  
MOLECULAIRE

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

**Etude de l'effet antitoxique de l'extrait  
méthanolique de l'espèce *Cotula cinerea* vis à-  
vis le pesticide Chlorpyrifos chez les rats *wistar  
albinos***

Présenté par:

**DRIDI Naima et SEGUENI Nadjat**

**Membres du jury :**

**soutenu le 01/06/2015**

|           |                          |       |                      |
|-----------|--------------------------|-------|----------------------|
| Président | Mr. DEROUICHE Samir      | M.A.A | Université d'El Oued |
| Promoteur | Mr. DJAHRA Ali Boutlelis | M.C.B | Université d'El Oued |
| Examineur | Mr. KHELEF Yahya         | M.A.B | Université d'El Oued |

**Année Universitaire 2014/2015**

## SOMMAIRE

|  |    |
|--|----|
| Résumé français  |    |
| Résumé arabe   |    |
| Résumé anglais   |    |
| Liste des figures  |    |
| Liste des tableaux   |    |
| Liste des abréviations                                       |    |
| INTRODUCTION   |    |
| PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE                    |    |
| CHAPITRE I : ETUDE DE L'ESPECE VEGETALE                      |    |
| I.1.Famille Astéracées (Composées).....                      | 04 |
| I.2.Genre <i>Cotula</i> .....                                | 05 |
| I.3.Etude de l'espece <i>Cotula cinerea</i> .....            | 05 |
| I.3.1. Noms vernaculaires de <i>Cotula cinerea</i> .....     | 05 |
| I.3.2.Description de l'espèce .....                          | 05 |
| I.3.3.Position systématique .....                            | 06 |
| I.4.Répartition géographique .....                           | 06 |
| I.5. Composition chimique de la plante .....                 | 06 |
| I.6.Propriétés et usages thérapeutiques .....                | 07 |
| CHAPITRE II : RELATION TOXICITÉ- STRESS OXYDATIF             |    |
| II.1. Effet toxique .....                                    | 08 |
| II.1.1. Toxicité aiguë .....                                 | 08 |
| II.1.2. Toxicité à terme (subaiguë et chronique) .....       | 08 |
| II.2. Devenir d'un toxique dans l'organisme .....            | 09 |
| II.3. Manifestation toxique dans l'organisme .....           | 09 |
| II.3.1.Le foie .....   | 10 |
| II.3.1.1. Structure générale du parenchyme hépatique .....   | 10 |
| II.3.1.2.Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques ..... | 11 |
| II.3.2.Le rein .....   | 11 |
| II.3.2.1.Unité structurale du rein ; le néphron .....        | 11 |
| II.3.2.2.Rein et l'élimination des toxiques .....            | 12 |
| II.4.Stress oxydatif .....                                   | 12 |

|   |    |
|---|----|
| II.4.1.Définition d'un radical libre .....  | 13 |
| II.4.2. Types des radicaux libres .....   | 13 |
| II.4.3.Les antioxydants .....   | 14 |
| II.4.3.1.Définition Un antioxydant .....  | 14 |
| II.4.3.2.Classification des antioxydants .....                                    | 14 |
| II.a) les antioxydants primaires .....  | 14 |
| II.b) les antioxydants secondaires.....   | 15 |
| <b>DEUXIEME PARTIE: ETUDES EXPERIMENTALE</b>                                      |    |
| <b>MATERIELS ET METHODES</b>  |    |
| 1. Matériel Utilisé .....   | 18 |
| 1.1. Matériel végétal.....  | 18 |
| 1.1.1. Site de prélèvement .....  | 18 |
| 1.1.1. 2. Séchage .....   | 18 |
| 1.2. Matériel animal .....  | 19 |
| 1.3. Insecticide (Chlorpyrifos) .....   | 19 |
| 2. Méthode suivies .....  | 20 |
| 2. 1. Préparation de l'extrait brut méthanolique .....                            | 20 |
| 2. 2. Rendement de l'extrait brut méthanolique .....                              | 20 |
| 2. 3. Dosage des composés phénoliques totaux .....                                | 20 |
| 2.4. Evaluation de l'effet antitoxique .....                                      | 21 |
| 2.4.1. Détermination de la DL <sub>50</sub> de l'insecticide (Chlorpyrifos) ..... | 21 |
| 2.4.2. Préparation des solutions de l'insecticide (Chlorpyrifos) .....            | 21 |
| 2.4.3. Préparation des solutions à base d'extrait brut méthanolique .....         | 21 |
| 2.5. Protocole expérimentale .....  | 21 |
| 2.5.1. Prélèvement de sang.....   | 22 |
| 2.5.2. Dosage des paramètres biochimiques sériques .....                          | 22 |
| 2.5.3. Prélèvement du foie.....   | 22 |
| 3. Etude statistique .....  | 22 |
| <b>RESULTATS</b>  |    |
| 1.Rendement de l'extrait brut méthanolique .....                                  | 24 |
| 2.Teneur des composés phénoliques totaux dans l'extrait brut méthanolique .....   | 24 |
| 3.Evaluation de l'activité antitoxiques .....                                     | 25 |
| 3.1.Effet sur le poids .....  | 25 |
| 3.2.Effet sur les teneurs en enzymes sériques .....                               | 26 |

|  |    |
|--|----|
| 3.3.Effet sur les paramètres de bilan hépatique .....  | 26 |
| 3.4.Effet sur les paramètres de bilan rénal .....      | 27 |
| 3.5.Effet sur l'ionogramme .....                       | 28 |
| 3.6.Effet sur les autres paramètres biochimiques ..... | 28 |
| DISCUSSION   | 30 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES                             | 33 |
| REFERENCESBIBLIOGRAPHIQUES                             | 34 |
| ANNEXES  |    |

## Remerciements

*Nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous avons donné pour l'achèvement de cette mémoire.*

*notre sincères remerciements vont à nos encadreur : Monsieur DJAHRA Ali Boutlelis ; professeur à l'université d'El-Oeud, nous la remercions également pour sa disponibilité et son aide tout au long de cette modeste recherche, qu'elle trouve ici toutes nos gratitude.*

*Nous exprimons nos remerciements à Monsieur CHOUIKH Atef pour son aide.*

*Monsieur le pharmacien Abdelraouf LAMAA, directeur du laboratoire des analyses médicales LAMAA: nous tenons à vous remercier chaleureusement pour votre soutien scientifique et moral.*

*Il mes est aussi agréable de remercier vivement Mme SANAA.*

*Responsable du laboratoire de Technicien d'Université d'EL-OEUD pour sa aide matérielle.*

*Notre respect et reconnaissance sont adressés à Messieurs DEROUICHE Samir et KHELLEF Yahya enseignants à l'université d'El-Oued, qui mes fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*En fin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et nos remerciements.*

## RESUME

Les enquêtes épidémiologiques ont évoqué l'implication des pesticides dans plusieurs pathologies chez des personnes exposées à ces substances. Les objectifs de ce travail sont d'étudier l'effet toxique de pesticide Chlorpyrifos couramment utilisés pour le traitement phytosanitaire et les effets antitoxiques des polyphénols de l'extrait méthanolique de *Cotula cinerea*. Pour ce faire, des 25 rats males *Wistar albinos* ont été d'abord soumis par gavage à l'action du Chlorpyrifos (9 mg/kg/j) et suivis par trois doses différentes (100, 200 et 400 mg/Kg/j) de l'extrait méthanolique de *Cotula cinerea*. Après 10 jours de traitement, les rats ont été sacrifiés. Les échantillons du sang ont été prélevés pour le dosage des paramètres biochimiques sériques, ils ont été réservés pour évaluer l'activité antitoxique.

Une diminution dans la concentration des paramètres lipidiques (Cholestérol, Triglycérides et lipides totaux) et des transaminases (TGO et TGP) et les autres enzymes LDH, GGT et PAL en plus de l'ionogramme et les protéines totaux avec la bilirubine a été notée chez les rats traités par rapport à celles des témoins non traités. On conclut que les résultats obtenus ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante étudiée présente des propriétés antitoxiques assez intéressantes.

**Mots clés :** Activité antitoxique, Polyphénols, *Cotula cinaria*, Stress Oxydatif, Chlorpyrifos.

## الملخص

إن التقارير الوبائية تستدعي اختبار المبيدات الحشرية كمصدر للكثير من الأمراض عند الأشخاص المعرضين لهذه. الهدف من هذا العمل هو دراسة الأثر السام للمبيد Chlorpyrifos الذي يستخدم كثيرا في علاج النباتات و الفعالية ضد السمية للمواد الفينولية للمستخلص الميثانولي لـ *Cotula cinerea*، لهذا الغرض تم إخضاع 25 جرد ذكور من نوع *Wistar Albinos* إلى جرعات عن طريق البلع لـ Chlorpyrifos بتركيز 9 مغ/كغ/يوم و يليها ذلك ثلاث تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي (100، 200، 400 مغ/كغ/يوم). بعد عشرة أيام تم الذبح و أخذت عيّنات الدم من أجل تحديد المعايير البيوكيميائية لتقدير النشاط ضد السمية.

سمحت النتائج المحصل عليها بتأكيد أن المستخلص للنبتة المدروسة يحتوي على خصائص مهمة ضد السمية، حيث ساهمت في انخفاض تراكيز المعايير الدهنية (كوليسترول، ثلاثي الغليسريد والدهون الاجمالية) و الإنزيمات (LDH, GGT , PAL TGO, TGP) اضافة الى المخطط الايوني والبروتينات الاجمالية و البيليريبيين عند الجرذان المعالجة بالمستخلص مقارنة بتلك غير المعالجة.

**الكلمات المفتاحية:** الفعالية ضد السمية، متعدد الفينولات، الإجهاد التأكسدي، *Cotula cinerea*، Chlorpyrifos.

## **ABSTRACT**

The epidemiological inquiries evoked the implication of pesticides in several pathologies at people exposed to these substances. The objectives of this work are to study the toxic effect of pesticide Chlorpyrifos usually used for the phytosanitary treatment and the antitoxic effects of the polyphenols of the méthanolique extract of. To do it, 25 male rats *Wistar albino* was subjected at first by way force-feeding to the action of the Chlorpyrifos (9 mg / kg / day) and followed by three different doses (100, 200 and 400 mg / kg / day) by the méthanolique extract of *Cotula cinerea*. After 10 days of treatment, rats were sacrificed. The samples of the blood were taken for the dosage of the serum biochemical parameters, they were served for estimating the antitoxic activity.

A decrease in the concentration of the lipid parameters (Cholesterol, Triglycerides and total lipids) and transaminases (TGO and TGP) and the other enzymes LDH, GGT and the PAL besides the ionogramme and the total proteins with the bilirubine was noted at rats treated compared with those of the witnesses untreated. One end that the obtained results allowed to assert that the extract of the studied plant presents rather interesting antitoxic properties.

**Keywords:** activity antitoxin, Polyphenols, *Cotula cinaria*, Oxidative Stress, Chlorpyrifos.

## المخلص

إن التقارير الوبائية تستدعي اختبار المبيدات الحشرية كمصدر للكثير من الأمراض عند الأشخاص المعرضين لهذه المواد لا سيما السرطانية، العصبية، اضطرابات التكاثر.... الهدف من هذا العمل هو دراسة الأثر السام للمبيد Chlorpyrifos الذي يستخدم كثيرا في علاج النباتات و الفعالية ضد السمية للمواد الفينولية للمستخلص الميثانولي لـ *Cotula cinerea*، لهذا الغرض تم إخضاع جردان ذكور من نوع *Wistar Albinos* إلى جرعات عن طريق البلع لـ Chlorpyrifos بتركيز 9 مغ/كغ/يوم و يليها ذلك ثلاث تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي (100، 200، 400 مغ/كغ/يوم). بعد عشرة أيام تم الذبح و أخذت عينات الدم من أجل تحديد المعايير البيوكيميائية لتقدير النشاط ضد السمية. سمحت النتائج المحصل عليها بتأكيد أن المستخلص للنبته المدروسة يحتوي على خصائص مهمة ضد السمية، حيث ساهمت في انخفاض تراكيز المعايير الدهنية (كوليسترول، ثلاثي الغليسريد) و الإنزيمات (TGO, TGP) عند الجرذان المعالجة بالمستخلص مقارنة بتلك غير المعالجة.

**الكلمات المفتاحية:** الفعالية ضد السمية، متعدد الفينولات، الإجهاد التأكسدي، *Cotula cinerea*، Chlorpyrifos.

## Liste des figures

| <b>Numéro</b> | <b>Titre</b>   | <b>Page</b> |
|---------------|--|-------------|
| Figure 01     | Vue générale des parties d'une plante des Astéracées   | 05          |
| Figure 02     | vue générale de l'espèce <i>Cotula cinerea</i>   | 06          |
| Figure 03     | Cheminement d'un toxique dans l'organisme  | 09          |
| Figure 04     | Organisation structurale du lobule hépatique   | 11          |
| Figure 05     | Organisation structurale du néphron rénal  | 12          |
| Figure 06     | principale source des ROS  | 14          |
| Figure 07     | Structure des tocopherols  | 15          |
| Figure 08     | Structure de l'acide ascorbique  | 16          |
| Figure 09     | Structure de beta carotène   | 16          |
| Figure 10     | les polyphenoles   | 16          |
| Figure 11     | Localisation géographique de la zone d'étude (Ben Guecha, wilaya d'El Oued).   | 18          |
| Figure 12     | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.   | 25          |
| Figure 13     | Effet de l'extrait brut méthanolique sur les paramètres enzymatique chez les rats soumises à l'effet de l'insecticide. | 26          |
| Figure 14     | Variation des ions Ca, Mg, K, Na sous effet de pesticide et la plante chez les rats de Wistar                          | 28          |

## Liste des tableaux

| <b>Tableau</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|----------------|---|-------------|
| Tableau 01     | Caractéristiques de la chlorpyriphos-éthyl  | 19          |
| Tableau 02     | Caractères physico-chimiques de la chlorpyriphos-éthyl  | 20          |
| Tableau 03     | Concentrations des substances testées   | 22          |
| Tableau 04     | Pourcentage de l'extrait brut méthanolique des feuilles de <i>Cotula cinerea</i> .                                | 24          |
| Tableau 05     | Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut méthanolique de <i>Cotula cinerea</i>     | 25          |
| Tableau 06     | Poids corporel, poids du foie et poids relatif du foie des différents lots de rats.                               | 25          |
| Tableau 07     | Effet de l'extrait brut sur les paramètres de bilan hépatique chez les rats traités par l'insecticide             | 26          |
| Tableau 08     | Effet de l'extrait brut sur les paramètres de bilan rénal chez les rats traités par l'insecticide                 | 27          |
| Tableau 09     | Effet de l'extrait brut sur les autres paramètres biochimiques lipidiques chez les rats traités par l'insecticide | 29          |

## Liste des abréviations

**Ac uriq:** Acide Urique  
**BD:** Bilirubine Direct  
**BT:** Bilirubine Totale  
**Ca:** Calcium  
**CG:** Chromatographie en phase Gazeuse  
**Chol:** Cholestérol  
**CPF:** Chlorpyrifos.  
**Créat:** Créatinine  
**ERA:** Espèces Réactives de l'Azote  
**ERO:** D'espèces Réactives Oxygénées  
 **$\gamma$ -GT:** Gamma-Glutamyl Transféras  
**Gly:** Glycémie  
**H3PMO12O4:** Acide phosphomolybdique :  
**H3PW12O40:** Acide phosphotungstique :  
**HPLC:** Chromatographie Liquide Haute Performance  
**K:** Potassium  
**LDH:** Lactate Déshydrogénase  
**Lip T:** Lipides Totaux  
**Mg:** Magnésium  
**MO8O3 :** Molybdène  
**Na2CO3 :** Carbonate de Sodium  
**PAL:** Phosphatase Alcaline  
**PCB:** PolyChloroBiphényles  
**PEB :** Poids de L'Extrait Brut.  
**PMV :** Poids de Matière Végétale.  
**POPs:** Les Polluants Organiques Persistants  
**PrT:** Protéines Totaux  
**R :** Rendement.  
**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire  
**SM:** Spectromètre de Masse.  
**SO:** Stress Oxydant  
**TG:** Triglycerides

**TGO:** Glutamooxaloacétate Transférase

**TGP:** Glutamopyruvate Transférase

**UV:** Ultra Violet

**W8O23:** Tungstène

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, les humains apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autre au contraire semble plus fondée, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains (LAROUSSE, 2001 et VERDRAGER, 1978).

N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques.

En dépit des résultats spectaculaires obtenus par l'allopathie, la médecine classique connaît aussi des échecs, l'affaire de la thalidomide en est un exemple dramatique. En 1962, en Allemagne et en Grande-Bretagne, 3000 enfants, dont les mères avaient pris des sédatifs durant leur grossesse, naissent avec des difformités. En effet, on se rend compte, brusquement, qu'un traitement à base de médicaments sophistiqués peut engendrer des effets secondaires catastrophiques. Ceci s'applique aussi aux plantes, car si ces dernières sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste : mal dosée, l'éphédra (*Ephedra sinica*) est très toxique et la consoude (*Symphytum officinale*), une plante qui a connu, jadis, son heure de gloire, peut avoir des effets fatals dans certaines circonstances. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités. (VERDRAGER, 1978 et FERNANDEZ, 2003).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIII<sup>e</sup> siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques des plantes, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

S'il est capital de maîtriser l'action des différents principes actifs pris isolément, la phytothérapie, à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi « totum » plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Etudier les pièces d'une montre et réussir à en identifier les parties essentielles ne permet pas de comprendre comment elle fonctionne, de même que disséquer une plante médicinale pour isoler ses principes actifs ne suffit pas pour expliquer comment elle agit. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Ainsi, des chercheurs ont démontré que les principes actifs de nombreux végétaux, tels ceux du ginkgo (*Ginkgo biloba*), agissent de manière complexe et combinée pour produire un effet thérapeutique global.

Les plantes contiennent des centaines, voire des milliers de substances chimiques actives. Souvent, déterminer en détail l'action d'une plante est très difficile, sinon impossible, même si son effet médicinal est, en revanche, bien connu. L'étude pharmacologique des plantes entières indique qu'elles fonctionnent comme un puzzle incomplet. (FERNANDEZ, 2003 et BRUNETON, 1999).

La phytothérapie continuera-t-elle à être appréciée à sa juste valeur, c'est comme un large éventail de traitements équilibrés, sains, économiques et écologiques, ou ne sera-t-elle qu'une nouvelle activité économique devant impérativement générer des bénéfices immédiats ?

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale utilisée en phytothérapie. Il s'agit de *Cotula cinerea*.

Notre objectif était de vérifier la spécificité de cette plante aussi bien du point de vue biochimique (Teneur en polyphénols) que sur le plan antitoxique de ses composants majeurs.

- L'utilisation massive de cette plante par les populations est-elle justifiée ?
- Est-elle riche en substances naturelles phytothérapeutiques protectrice contre l'intoxication causée par le chlorpyrifos ?
- C'est ce que nous efforcerons de démontrer à travers cette étude dans le cadre de ce mémoire. Notre travail s'articule en deux parties.

- Dans une première partie, nous dresserons un aperçu bibliographique sur l'espèce végétale *Cotula cinerea* (leur classification, leurs principales substances naturelles...) et la relation toxicité-stress oxydatifs (effet toxique, manifestation toxique dans l'organisme...).

- La seconde partie, nous essayerons de démontrer le pouvoir antitoxique de l'extrait brut de la plante *Cotula cinerea* et nous terminerons enfin par la discussion, conclusion et les perspectives.

**SYNTHESE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE I : ETUDE DE L'ESPECE VEGETALE**

**Généralité**

L'étude de l'espèce végétale *Cotula cinerea* nécessite en premier lieu la détermination de son emplacement dans les diverses catégories de la classification systématique botanique. D'ailleurs, elle fait partie de l'embranchement des spermaphytes, sous embranchement des angiospermes et la classe des dicotylédones.

Cette classe taxonomique constitue une importante partie dans la totalité des espèces végétales répandues dans le monde entier. Cela est confirmé par son énorme distribution et ses nombreuses familles. Parmi lesquels on cite la famille des Astéracées dont l'espèce à étudier fait partie.

**1. Famille Astéracées (Composées)**

La famille des composées (Compositae = Asteraceae) est une des plus vastes dans le règne végétale (BOUZIANE, 2002), Famille de loin la plus importante de notre territoire puisqu'elle renferme 408 espèces réparties en 109 genres (QUEZEL et SANTA, 1962). Les deux caractéristiques essentielles de la famille sont groupement des fleurs en capitules et soudure des étamines par leurs anthères. Le capitule est entouré par des pièces appelées bractées dont l'ensemble forme l'involucre, ces bractées sont généralement sur plusieurs rangs et étroitement imbriquées. A l'intérieur de l'involucre, les fleurs sont insérées côte à côte sur un réceptacle généralement plan ou un peu bombé, parfois convexe, chez une partie des genres, elles sont séparées par des paillettes membraneuses ou dures, les fleurs sont généralement dissemblables dans un même capitule, celles du centre ayant à la fois étamines et pistil tandis que celles de la périphérie sont ordinairement uniquement femelles. La corolle peut être en forme de tube terminé par cinq dents représentant la partie libre des pétales, ou bien en forme de languette constituée par l'ensemble des pétales rejetés d'un même côté, les fleurs en languette, dites ligules, occupent la périphérie du capitule (sauf dans la sous-famille des liguliflores où les fleurs sont toutes en languette) (OZENDA, 1977).



Figure 01 : Vue générale des parties d'une plante des Astéracées  
([http://cabanedetellus.free.fr/Flore\\_Familles\\_Tellus.html#Astéracées](http://cabanedetellus.free.fr/Flore_Familles_Tellus.html#Astéracées))

## 2. Genre *Cotula*

Ce genre compte quelques 80 espèces d'annuelles et de vivaces, dont quelques-uns partiellement aquatique, sont répandues dans de nombreuses régions tempérées de l'hémisphère Sud de l'Afrique, Australie et à l'Amérique du Sud. Les petites feuilles tendres sont souvent profondément découpées. Et les petites capitules ressemblent à des boutons sans rayon. Bien que les bractées forment parfois un cercle autour du disque jaune pur ou crème (GEOFF et *al.*, 2013). Ce genre est représenté par trois espèces dans l'Algérie Parmi lesquels *Cotula cinerea* (OZENDA, 1977).

## 3. Etude de l'espèce *Cotula cinerea*

### 3.1. Noms vernaculaires de *Cotula cinerea*

Noms Arabes : selon (CHOUIKH et CHEFROUR, 2012) shiha, shihia, shih el ibel. Guertoufa beida ou chuihiya (MAIZA et *al.*, 1993). Elle aussi nommée Gartoufa (BENSIZRARA et *al.*, 2013; DJELLOULI et *al.*, 2013; ABDENI et *al.*, 2014).

### 3.2. Description de l'espèce

Feuilles petites, entières, tridentées au sommet, laineuses blanchâtres, épaisses, divisées dans leur partie supérieure en 3 à 5 dents obtuses; tiges de 10 – 40 cm, couchées puis redressées; capitules de 6 à 10 mm de diamètre, à involucre laineux à fleurs toutes tubuleuses, brunes en

boutons puis jaune d'or lorsqu'elles s'ouvrent. Très commun dans tout le Sahara, notamment dans les sols un peu sablonneux. (OZENDA, 1977; QUEZEL et SANTA, 1962).

### 3.3. Position systématique

La détermination de la position taxonomique de l'espèce végétale *Cotula cinerea* Del. dans la classification systématique botanique a été faite selon (QUEZEL et SANTA, 1963). Elle est la suivante :

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Endicots

Sous classe : Astéridées

Ordre : Astérales

Famille : Astéracées ou Composées

Genre : *Cotula*

Espèce : *Cotula cinerea* Del., syn: *Brocchia cinerea* (Del.)



Figure 02 : Vue générale de l'espèce *Cotula cinerea* (www.treknature.com)

### 4. Répartition géographique :

L'espèce *Cotula cinerea* est très rencontrée dans tout region saharienne de l'Algérie, elle pousse dans les ergs et les sols peu ensablés. Où elle est connue sous le nom de chouihia (ou parfois chihia). *Cotula cinerea* est aussi connue dans les régions sahariennes d'Egypte et du Maroc (BOUZIANE, 2002).

### 5. Composition chimique de la plante

On y trouve des flavonoïdes isolées chez *Cotula cinerea* sont : flavone O- et C-glycosides, flavonols glycosides et quercetagétine 3, 6, 7-triméthyl éther, lactones sesquitérpéniques, les glaucolides (METWALLY et al., 1986) et les coumarines sesquitérpéniques (GREGER et HOFER, 1985).

**6. Propriétés et usages thérapeutiques**

Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle marocaine pour ses propriétés biologiques comme les activités anti-inflammatoire, analgésique, antiseptique, antibactérienne, antipyrétique et contre les larves, (MARKOUK et *al.*, 1999; LARHSINI et *al.*, 2002). Dans le Sahara algérien plus précisément à Ouargla, cette plante est destinée contre la colique, la diarrhée, la toux, le rhumatisme et la stérilité (HAMMICHE et MAIZA, 2006).

**Généralité**

En Europe, en Amérique du Nord et dans tous les pays développés en général, la pathologie hépatique est d'origine virale (Hépatites), la toxicomanie, l'alcoolisme, l'abus alimentaire, certains traitements médicamenteux (médicaments du système nerveux central, antibiotiques, certains analgésiques, médicaments de la chimiothérapie (HIKINO *et al.*, 1984). mais aussi d'origine chimique par la pollution industrielle et agricole. Les solvants tels que le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, dichloropropane, dichloropropène, dibromoéthane, dichloroéthane, chlorobenzène, tétrachlorobenzène...etc. les produits phytosanitaires ou pesticides tels que les pyridines ou intermédiaire de synthèse de pesticides, polychlorobiphényles (PCB), les organophosphorés, les triazines, les phénylurées. A titre d'exemple, Les PCB sont pratiquement non biodégradables d'où un problème majeur d'écotoxicité (bioaccumulation au long des chaînes alimentaires). Leur pyrolyse à des températures élevées entraînent des anomalies biologiques hépatiques (augmentation modérée des triglycérides, des Gamma Glutamyl Transférase  $\gamma$  GT, des transaminases) avec parfois hépatomégalie. Les organophosphorées quant à eux entraînent des intoxications hépatorénales aiguës s'accompagnant d'une acidose métabolique qui peut se compliquer d'une cytolysse hépatique ou d'une tubulopathie rénale liée à la myoglobinurie. Cela nous donne un aperçu sur le problème de santé publique que posent les pathologies hépatiques à l'échelon mondial. (MORA V *et al.*, 1992)

**1. Effet toxique**

Selon la fréquence et la durée de l'exposition ou l'administration du toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité : la toxicité aiguë et la toxicité à terme : subaiguë et chronique.

**1.1. Toxicité aiguë**

La toxicité aiguë englobe tous les phénomènes spécifiques et les signes adverses, qui se manifestent juste après l'exposition de l'organisme à une prise unique ou plusieurs prises très rapprochées d'un agent chimique. L'effet toxique aigu est généralement considéré comme un effet qui se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition (LEBLANC, 2010).

**1.2. Toxicité à terme (subaiguë et chronique)**

Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles (exemple : Neurotoxicité de l'hexane). L'évaluation de la toxicité aiguë d'une substance ne permet pas de prédire ce type de toxicité. Des

études destinées à évaluer la toxicité subaiguë et chronique doivent donc être effectuées (REICHL, 2004).

La toxicité subaiguë est due à l'exposition répétée à une dose du toxique, qui ne cause aucune toxicité aiguë évidente, pendant une période assez prolongée mais à condition de ne pas constituer une partie significative de la vie de l'espèce examinée. Dans les essais de la toxicité. subaiguë, l'administration orale pendant 28 ou 90 jours chez le rat (ou bien la souris) ou le chien, respectivement, serait typique (HODGSON et CUNNY, 2010).

## 2. Devenir d'un toxique dans l'organisme

Une substance qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfastes (toxiques). Inversement, l'organisme peut agir sur cette substance : c'est le métabolisme. La réponse de l'organisme à un toxique dépend de la quantité de la substance présente dans un tissu ou un organe. Plusieurs facteurs interviennent dans les processus d'action toxique (Figure 03), (BAYNES et HODGSON, 2010).

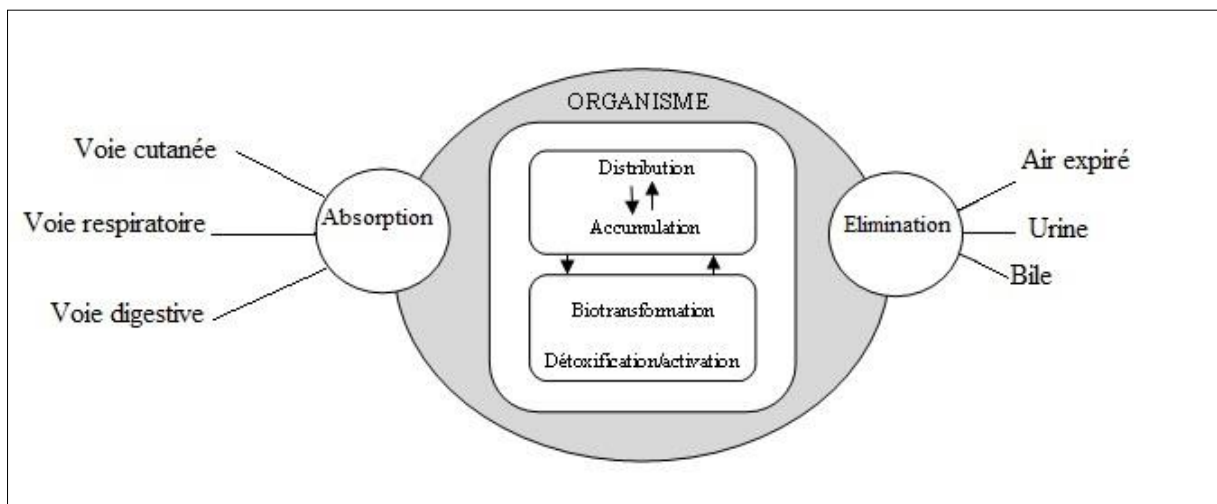


Figure 03: Cheminement d'un toxique dans l'organisme (LAPOINTE, 2004).

## 3. Manifestation toxique dans l'organisme

L'expression des effets toxiques ou la manifestation toxique peut être très différente dans l'organisme vivant. Ces réponses toxiques ont été classées en catégorie comme suit (TIMBRELL, 2000):

- 1) Action toxique directe : les lésions tissulaires,
- 2) Effets physiologiques et biochimiques,
- 3) Immunotoxicité,
- 4) Mutagénèse
- 5) Carcinogénèse.

Les toxiques ne produisent pas des effets avec la même intensité sur tous les organes. Celui-ci dépend de nombreux facteurs, y compris l'importance de l'organe et la quantité des substances toxiques et/ou des métabolites réactifs qu'il contient. Des organes tels que le rein et le foie sont bien approvisionnés avec le sang et sont métaboliquement actifs, parce qu'ils ont un rôle important dans la biotransformation et l'excrétion des toxiques. Ces organes sont appelés organes cibles puisqu'ils sont plus vulnérables et plus exposés aux toxiques que les organes ou les tissus mal irrigués ou métaboliquement moins actifs tels que la peau et l'os (TIMBRELL, 2000 ; LAPOINTE, 2004).

### **3.1. Le foie**

Le foie est un organe vital, tout comme le coeur et les poumons. Il est souvent l'organe cible chez les animaux d'expérience (RHIOUANI *et al.*, 2008), car il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. Il participe à la digestion, à l'emmagasinage des aliments ainsi qu'à la détoxification (en aidant l'organisme à se débarrasser de ses poisons) et à l'élimination *via* les canalicules biliaires (GEROLANI, 2005).

#### **3.1.1. Structure générale du parenchyme hépatique**

De point de vue histologique, le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides (Figure 04). L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique qui est entouré d'espaces portes, où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires (WALLACE et MEYER, 2010).

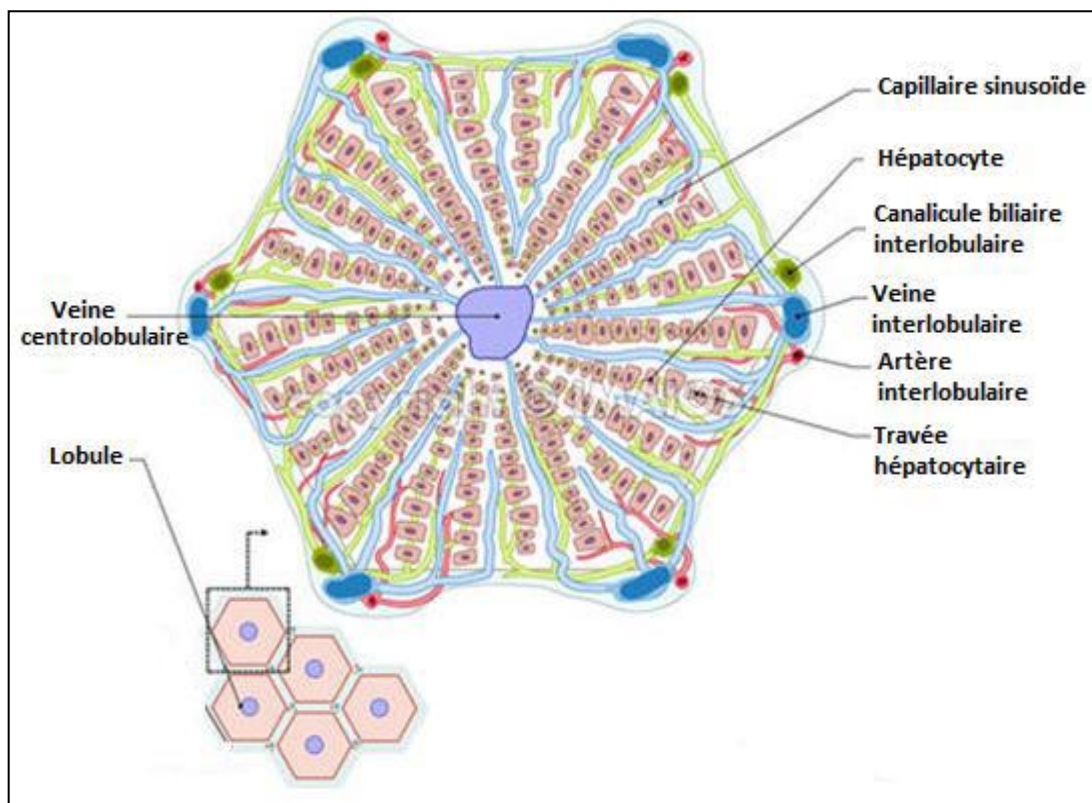


Figure 04 : Organisation structurale du lobule hépatique (WALLACE et MEYER., 2010).

### 3.1.2. Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques

Le foie est un organe annexe du tube digestif, il remplit de nombreuses fonctions indispensables à la vie. D'une part, il participe au processus de la digestion par la sécrétion biliaire et d'autre part, il transforme l'apport discontinu des substances absorbées par le tube digestif en un flux continu de substances nutritives qui assurent une fourniture suffisante de principes nutritifs à l'organisme. Toutes les substances introduites dans l'organisme et atteignant le torrent circulatoire, y transitent et y subissent des transformations plus ou moins complexes de leurs structures avant d'être excrétées. Le foie se trouve de ce fait exposé à diverses agressions qui ont parfois de graves répercussions sur tout l'organisme (GUILLOUZO et *al.*, 1989).

## 3.2 Le rein

De même que pour le foie, le rein est un organe important dans le cheminement des substances toxiques. Sa fonction majeure consiste à filtrer le sang, en dégageant toute substance nocive et en conservant les molécules essentielles (REICHL, 2004).

### 3.2.1. Unité structurale du rein ; le néphron

Microscopiquement (Figure 05), chaque rein est constitué d'un complexe des unités fonctionnelles appelées néphrons (LACARELLE et VIALA, 2005). Ceux-ci sont composés

des glomérules (petits réseaux de vaisseaux sanguins) et des tubules (subdivisé en tubule proximal, l'anse d'Henlé, le tubule distal) et finalement le tube collecteur.

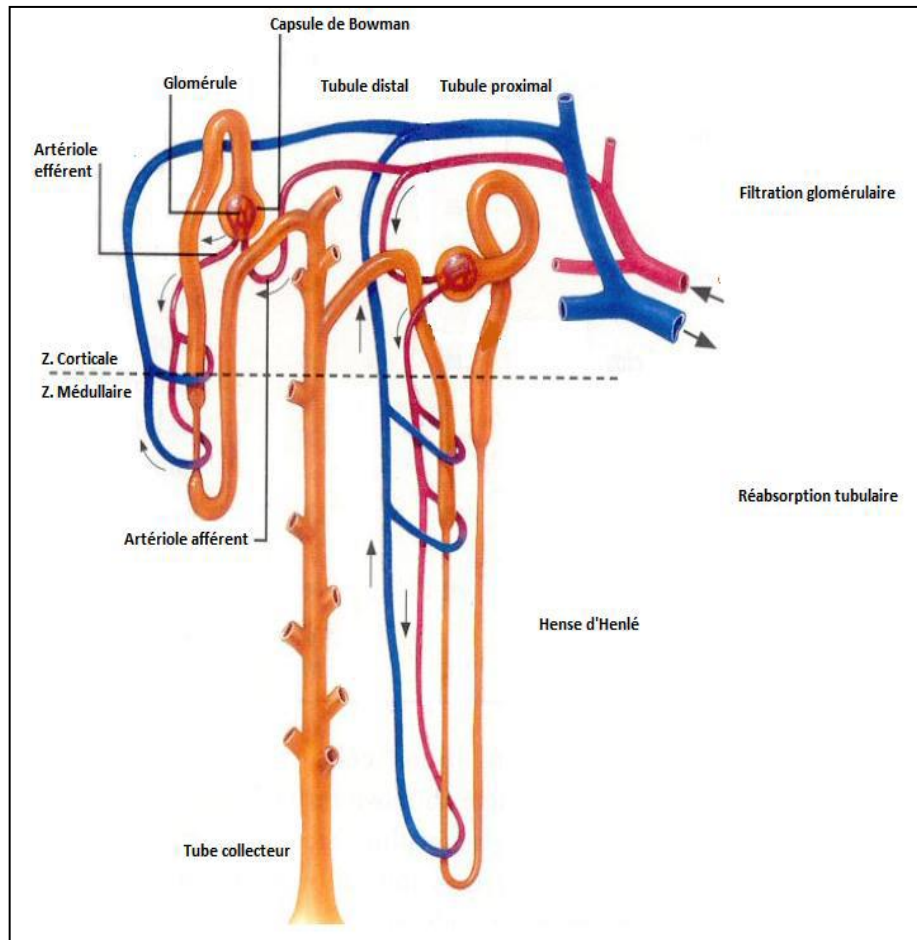


Figure 05: Organisation structurale du néphron rénal (TARLOFF et WALLACE, 2010).

### 3.2.2. Rein et l'élimination des toxiques

La filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire (98% des électrolytes et d'eau et virtuellement, 100% du glucose et d'acides aminés filtrés par les glomérules) sont les principales étapes de la formation de l'urine. Cependant, le rein exerce plusieurs d'autres fonctions vitales (régulation de la pression sanguine et du volume extracellulaire, le maintien de la balance acido-basique et électrolytique) qui sont intimement liés à son rôle dans le maintien de l'homéostasie intérieure, permettant de protéger les cellules vis-à-vis des conséquences des variations environnementales de l'organisme (TARLOFF et WALLACE, 2010).

## 4. Stress oxydatif

Le stress oxydant est responsable des dommages cellulaires liés à plusieurs maladies tel que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'influenza, le syndrome de Down, les

hépatites, l'arthrite rhumatoïdes, les désordres du système nerveux, l'ulcère, la pneumonie ainsi que le vieillissement. Il réfère à une rupture dans la balance oxydant/antioxydant cellulaire durant laquelle, la génération des oxydants est parfaitement maîtrisé par les systèmes de défense antioxydants, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (PHAM-HUY *et al.*, 2008; PANDEY et RIZVI, 2011). Cette rupture peut être due soit à la surproduction des radicaux libres (oxydants) et/ou par un déficit en antioxydants (ALEXANDROVA et BOCHEV, 2007).

#### **4.1. Définition d'un radical libre**

Un radical libre est un espèce caractérisée par une instabilité et/ou un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (BENHAMMOU, 2012).

#### **4.2. Types des radicaux libres:**

Les formes de l'oxygène provoquant le stress oxydant sont : l'oxygène singulier  $O_2$ , le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , les peroxydes alkyles  $ROOH$ , le radical super oxyde  $O_2$ , les radicaux hydroxyles  $OH$ , peroxyde  $ROO$  et alkyles  $RO$ . (MUANDA, 2010). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives de l'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. (GUENZET, 2012)

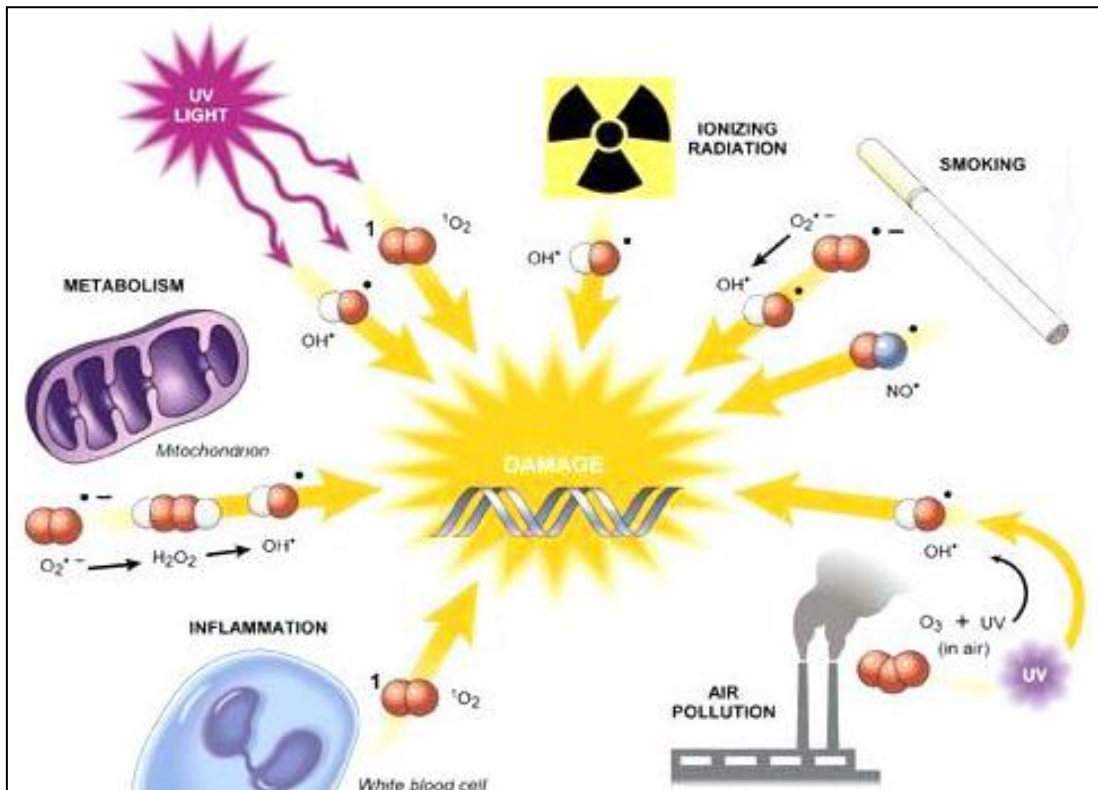


Figure 06: Principale source des ROS (MEZITI, 2009).

### 4.3. Les antioxydants

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les préférences physiologiques de l'organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique des espèces oxygénées réactives est assuré par des systèmes d'anti oxydant.

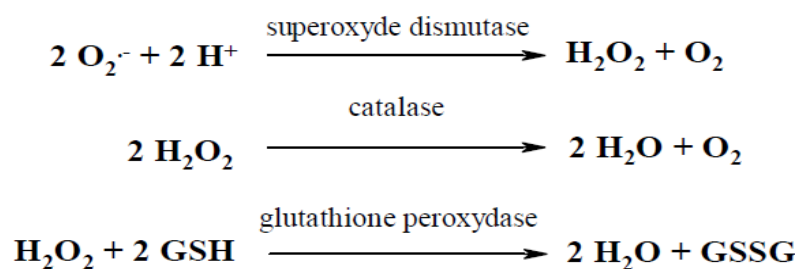
#### 4.3.1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toutes substances capable à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autre substrat oxydable et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (MEZITI, 2009).

#### 4.3.2. Classification des antioxydants

##### a) Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes anti oxydant qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente cette système comporte trois enzyme catalysent les réactions comme suivante (YEKHFLEF, 2010).



### b) Les antioxydants secondaires

Les compose de ce groupe sot catalogues comme préventifs .ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme radicalaire (OUATTARA, 1999).

Aussi cette groupe renferme des substances antis oxydantes d'origine endogène parmi les quelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoiique.de tous ces composes endogène synthétises par la cellule, la plus important est sas doute le glutathion (MEZITI, 2009)

- **Vitamine E**

Elle est désigne un groupe de nombreux composants présent dans la nature:les  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , et  $\delta$  - tocophérols et tocotrienols .elle intervient directement au niveau des membranes biologiques ou elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles. (KANNOUN, 2011). Elle est trouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes a feuilles verts (AUISSA, 2002)

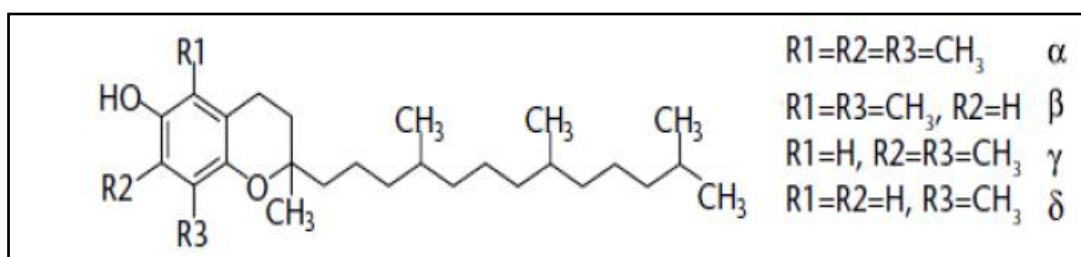


Figure 07: Structure des tocopherols (ALLANE, 2009).

- **Acide ascorbique (vitamine C)**

Contient une forme enediol qui produit la forme dicétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H.la forme enediol est régénérée par l'intervention d'enzyme super oxyde dismutase en présence d'une catalase. (MUANDA, 2010). De plus, l'ascorbate est muni d'une priorietes importante: la réparation de deux autre antioxydantes, le glutathion (GSH) et l'tocophérol apartir de leur formes radicalaires (BEN BRINIS, 2012).

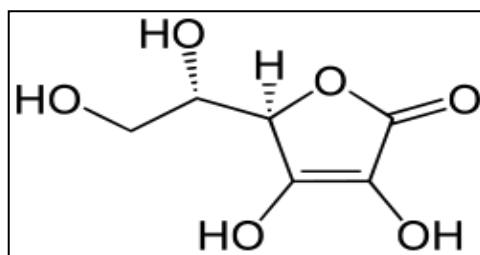


Figure 08: Structure de l'acide ascorbique (ZARROUR, 2012)

- **Caroténoïdes**

Sont des pigment végétal lipophiles formant une de plus de 600 molécules notamment le lycopène le  $\beta$ -carotène précurseurs de la vitamine A. le rôle biologique des caroténoïdes est, entre autre, complémentaire de celui de la vitamine E (BOUGANDOURA, 2001).

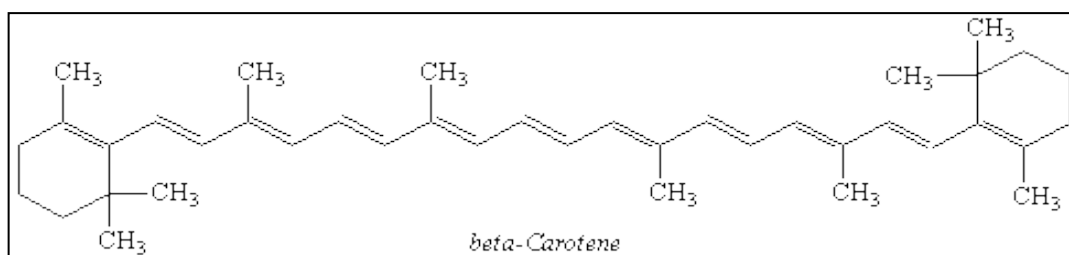


Figure 09 : Structure de beta carotène (BRICE, 2009)

- **Polyphénols**

plusieurs études épidémiologiques ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliment riche en polyphénols et le risque des maladies neurodégénératives. Cette relation est souvent attribuée aux activités antioxydantes : éliminer les effets des radicaux libres ainsi que de chélater les métaux de transition (BEN BRINIS, 2012).

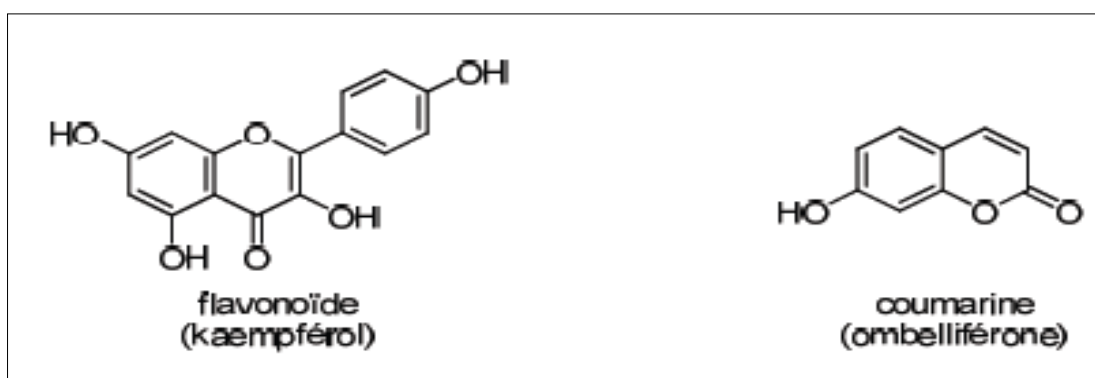


Figure 10: Deux exemples des polyphénols (BRICE., 2009).

Les composés phénoliques des végétaux correspondent à un vaste ensemble de molécules qui ont toutes en commun un noyau benzénique portant un ou plusieurs hydroxyles libre ou engagés dans une autre fonction. Ce sont des molécules issues des métabolites secondaires (TOMAS, 2011) cette famille de composé compte plus de 800 structures différents dont les

flavonoïdes et coumarines (BRICE, 2009). Le plus important parmi les polyphénols sont les flavonoïdes: Ces dernières années, une importance particulière a été attribuée en partie aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui ont la capacité de piéger directement les radicaux libres ils sont susceptibles de réagir la plupart des espèces réactives oxygénées (YEKHLEF, 2010), de chélater les ions métalliques, d'inhiber quelque enzyme en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydant et réduire les radicaux alpha tocophérol (NAIT SAID, 2007).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

**MATERIEL**  
**ET**  
**METHODES**

## MATERIEL ET METHODES

### 1. Matériel Utilisé

#### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des Acéracées *Cotula cinerea*, sa taxonomie et toutes les données la concernant ont été détaillées précédemment.

L'organe végétal choisi pour la réalisation des expérimentations de cette étude est la feuille puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.

##### 1.1.1. Site de prélèvement

La plante étudiée a été récoltée en mars 2014 durant la période floraison. Les échantillons de la plante ont été prélevés à partir d'un site de la région de Ben Guecha situé à 34°12'1" Nord et 7°37'22" Est. Le site fait partie de la wilaya d'El Oued (Figure 11).

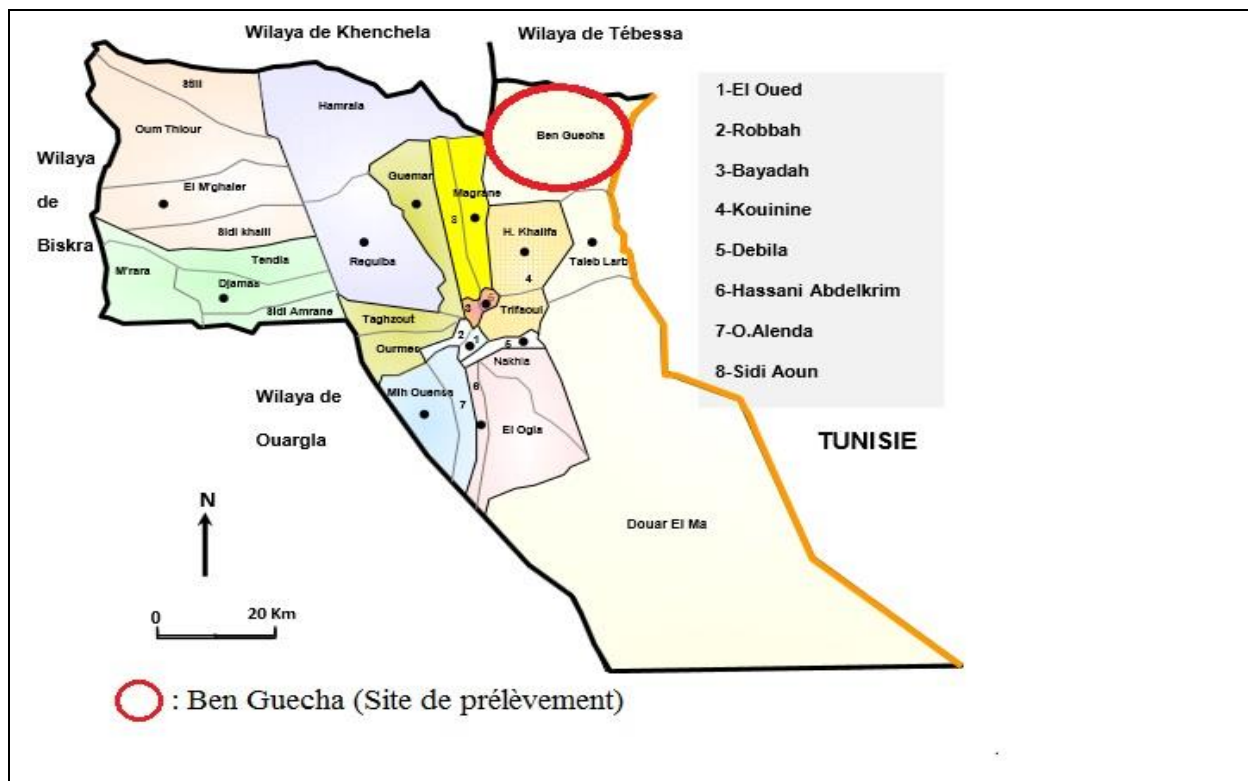


Figure11 : Localisation géographique de la zone d'étude (Ben Guecha, wilaya d'El Oued).source:P.D.A.U.wilaya d'El Oued 1997.

### 1.1.2. Séchage

Les plantes prélevées tôt le matin et au moment du débourrement sont placées dans des sacs en tissus puis transportées immédiatement au laboratoire en vue du séchage et des analyses. Les feuilles sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à bonne aération pendant deux semaines.

Une fois séchées, les feuilles sont soumises à un broyage manuel afin d'obtenir une poudre prête à l'emploi. La drogue obtenue est conservée dans des flacons en verre ambré en vue des expérimentations.

### 1.2. Matériel animal

Afin d'éviter la variabilité intersexe, nous n'avons utilisé que des rats mâles de souche *WISTAR ALBINO* (253.71 g  $\pm$  22.23) fournies par les laboratoires de l'Institut Pasteur d'Alger. Elles sont divisées en cinq lots et hébergées au niveau de l'animalerie dans des cages en polypropylène (cinq rats par cage :  $n = 5$ ) munies d'un porte étiquette où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subi. Les rats sont soumises pendant 15 jours à une période d'adaptation où elles ont un accès libre à l'eau et à l'aliment sous des conditions de lumière et de température contrôlées (12 heures d'éclairage / Température de 24 °C).

### 1.3. Insecticide (Chlorpyriphos)

Chlorpyriphos (3,5,6-trichloropyridin-2-yl-oxy-phosphorane) est un insecticide composé d'une seule matière active, la chlorpyriphos-éthyl qui appartient à la famille des organophosphorés. La chlorpyriphos-éthyl, est l'une des molécules de pesticide la plus utilisé en agriculture pour son large spectre d'activité. Les seuls usages rapportés pour le chlorpyriphos sont liés à son action de pesticide soit pour un usage agricole (Cet usage regroupe l'usage agricole extérieur (en plein champ) et intérieur (traitement des grains après récolte), soit pour un usage domestique (par exemple contre les fourmis). Le produit provient des laboratoires Bayer Ses caractéristiques et paramètres physico-chimiques sont présentés dans les tableaux 02.

Tableau 01 : Formule chimique et poids et synonyme de la chlorpyriphos-éthyl (Fiches signalétiques AGRITOX ).

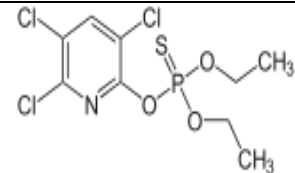
| Formule brute   | Formule plane   | Poids moléculaire (g) | Synonymes   |
|---|---|-----------------------|---|
| C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS |  | 350,59                | Chlorpyrifos<br>Chlorpyriphos<br>ethyl<br>Trichlormethylfos |

Tableau 02: Paramètres physico-chimiques de la chlorpyrifos-éthyl (Fiches signalétiques AGRITOX).

| Paramètre             | Valeur                              |
|-----------------------|-------------------------------------|
| Apparence             | Cristaux                            |
| Colleur               | Blanc                               |
| Point de Fusion       | 41.5-43.5°C.                        |
| Densité               | 1.38 +- 0.03 a200°C                 |
| Vapeur Pression       | 1.87 x 10 <sup>-5</sup> mmHg a250°C |
| Volatilité            | Non volatile                        |
| Absorption Spectrale  | 290 nm                              |
| Solubilité dans l'eau | 2 mg/l à 250°C                      |

## 2. Méthode suivies

### 2.1. Préparation de l'extrait brut méthanolique

20g de la plante est broyé et macéré dans 200 ml de méthanol avec l'agitation douce pendant 24heurs a température ambiante. L'extait methanolique est recuperé a l'aide de papier filtre. Puis on élimine le méthanol par evaporation sous pression réduite a sec dans un rotavapeur (Buchi Rotavapeur R-210) (METKOWSKI et PIOTROWSKA, 2006), T=60°C permettant ainsi d'obtenir un résidu caractérisé par une couleur vert foncée (noiretre), qui est ensuite repris par 5 ml de méthanol. Le résidu obtenu est conservé en récipient ombre pour éviter l'autooxydation par congélation.

### 2.2. Rendement de l'extrait brut méthanolique

L'extrait brut méthanolique isolé à été quantifié selon la formule :

$$R \% = \text{PEB}/\text{PMV} \times 100$$

R : Rendement

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g)

PMV : Poids de Matière Végétale (g)

### 2.3. Dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été estimés selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). Le réactif est formé d'acide

phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_4$ ) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_3$ ).

Pour cela 100  $\mu$ l de l'extrait brut méthanolique sont mélangés à 200  $\mu$ l du réactif de Folin et 3,16 ml de  $H_2O$ . Le mélange est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Ensuite 600  $\mu$ l de la solution carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) anhydre 20 % sont ajoutés au mélange. Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à UV (Ultra Violets) visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec de l'eau distillée à la place de la solution de l'extrait brut. La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 100  $\mu$ g/ml). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par ml d'extrait.

#### **2.4. Evaluation de l'effet antitoxique**

L'activité antitoxique est estimée par un certain nombre de paramètres biochimiques sériques, le poids corporel des rats et celui de l'organe cible (foie).

##### **2.4.1. Détermination de la $DL_{50}$ de l'insecticide (Chlorpyriphos)**

La  $DL_{50}$  (Dose Létale 50) ou la dose de substance provoquant 50% de mortalité dans la une population d'organismes étudiée, pendant un temps donné. En ce qui concerne l'insecticide (Chlorpyriphos), nous n'avons pas calculé la  $DL_{50}$  ; nous nous sommes référés aux données bibliographiques (MCCOLLISTER, 1974). La dose administrée est de 9 mg/kg/j.

##### **2.4.2. Préparation des solutions de l'insecticide (Chlorpyriphos)**

La concentration de la solution testée de l'insecticide Chlorpyriphos (9 mg/kg/j) sont préparées à partir de la solution mère dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0.9%).

##### **2.4.3. Préparation des solutions à base d'extrait brut méthanolique**

Les concentrations de l'extrait brut méthanolique (100, 200 et 400 mg/kg/j) sont préparées extemporanément. Les extraits sont dilués dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%) en fonction de la concentration désirée. La concentration de l'extrait est calculée en fonction du poids vif de l'animal.

#### **2.5. Protocol experimental**

Le principe consiste à provoquer chez les rats, une intoxication aigue et à évaluer l'effet antitoxique de l'extrait brut méthanolique de *cotula cinaria*. Les rats sont divisés en cinq lots de cinq individus ( $n=5$ ) dans des cages pour une période de dix jours. Les traitements ont

commencé après 15 jours d'adaptation. Les 10 jours suivants, elles reçoivent régulièrement en plus du composé toxique, la dose de l'extrait végétal 100 mg/kg/J, 200 mg/kg/J, 400 mg/kg/J, jusqu'à leur sacrifice. Le poids corporel des rats traités est mesuré tous les deux jours, durant toute l'expérimentation. Les doses d'insecticide et les doses de l'extrait brut méthanolique sont administrées par gavage. Les concentrations administrées pour chaque lot de rat sont présentées dans le tableau 03.

Tableau 03: Concentrations des substances testées.

|                 | Substance utilisée                         |   |                                       |
|-----------------|--|---|---------------------------------------|
|                 | Insecticide<br>(Chlorpyrifos)<br>(mg/kg/j) | Extrait brut<br>méthanolique<br>(mg/kg/j) | Témoin<br>Eau physiologique<br>(ml/J) |
| Lots I (Témoin) | -  | -   | 1                                     |
| Lots II         | 9  | -   | -                                     |
| Lots III        | 9  | 100                                       | -                                     |
| Lots IV         | 9  | 200                                       | -                                     |
| Lots V          | 9  | 400                                       | -                                     |

## 2.6. Prélèvement de sang

Les rats sont sacrifiés au bout du onzième jour, 24 heures après la dernière administration de l'extrait brut méthanolique de la plante. Les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le sang est recueilli dans des tubes héparines puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min, Le sérum est récupéré puis conservé au froid (-20 °C) en vue des analyses biochimiques.

## 2.7. Dosage des paramètres biochimiques sériques

Les paramètres analysés sont : Glutamopyruvate Transférase (TGO), Glutamooxaloacétate Transférase (TGP), Phosphatase Alcaline (PAL), Gamma Glutamyl Transférase ( $\gamma$  GT), Glucose, Cholestérol, Triglycéride, Protéine totaux, Urée, Acide Urique, Créatinine, Lipides Totaux, Bilirubines Direct, Bilirubines Indirect et Ionogramme: Ca, K, Mg, Na.

Les mesures sont effectuées à une longueur d'onde caractéristique pour chaque dosage. Le dosage des paramètres analysés est accompli par des kits "spinreact" et "bio-système". Les détails des méthodes analytiques utilisées pour les analyses biochimiques sériques sont présentés dans l'annexe N° 01.

## 2.8. Prélèvement du foie

L'extraction du foie se fait par dissection de l'abdomen. Après prélèvement, le foie est bien lavé par une solution physiologique, puis mesurée le poids relatifs de foie.

## 3. Etude statistique

Les résultats sont presents sous forme de moyenne  $\pm$  écart type.

La comparaison des moyennes entre les rats témoins et les rats expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de Student pour les différents paramètres. Les différences sont considérées significatives: avec P est égale 0, 05 et hautement significatives avec P < 0,01. Tous les calculs sont réalisés par l'EXCEL (2007).

# **RESULTATS**

## RESULTATS

### 1. Rendement de l'extrait brut méthanolique

Les valeurs obtenues de Rendement de l'extrait brut méthanolique sont représentées dans le tableau suivant (Tableau 04):

Tableau 04: Pourcentage de l'extrait brut méthanolique des feuilles de *Cotula cinerea*.

| Extrait brut<br>Drogue végétale | Poids de l'extrait (g) | Pourcentage de l'extrait (%) |
|---------------------------------|------------------------|------------------------------|
| Drogue foliaire                 | 20g                    | 5.075%                       |

La préparation de l'extrait brut méthanolique de la drogue a donné un rendement de l'ordre de 20g, ce qui correspond à un pourcentage de 5.075%. D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant.

En plus de ces aspects quantitatives, quelque soit la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs. Dans la présente étude, la méthode de macération permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

### 2. Teneur des composés phénoliques totaux dans l'extrait brut méthanolique

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut méthanolique à été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par ml d'extrait (mg EAG/ml d'extrait). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,99$  (figure 12).

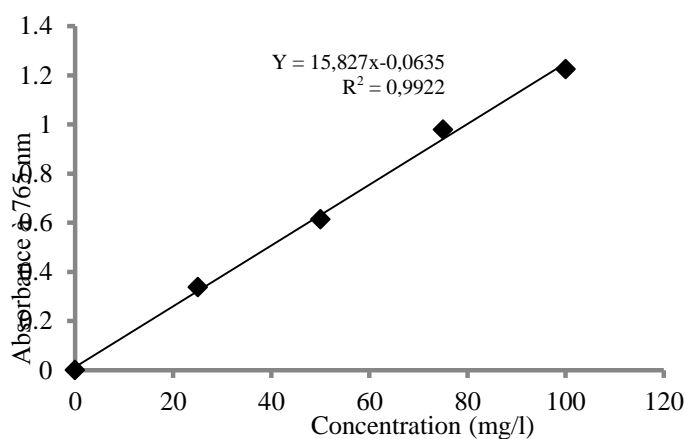


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 05: Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut méthanolique de *Cotula cinerea*

|              | Teneur en composés phénoliques (mg EAG/ml d'extrait) |
|--------------|--|
| Extrait brut | 0,03   |

Les résultats de dosage de phénols totaux révèlent que l'extrait brut méthanolique de l'espèce *Cotula cinerea* contient une teneur de l'ordre de 0,03 mg équivalent de l'acide gallique par ml d'extrait (mg EAG/ml d'extrait).

### 3. Evaluation de l'activité antitoxiques

#### 3.1. Effet sur le poids

Le poids corporel et le poids du foie ainsi que le poids relatif du foie (poids de l'organe X 100/poids de l'animal) des rats traités et ceux des témoins non traités sont reportés dans le tableau 06.

Tableau 06: Poids corporel, poids du foie et poids relatif du foie des différents lots des rats.

| Lots          | Poids                       |                           |                           |
|---------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|               | Poids corporels (g)         | Poids du foie (g)         | Poids relatif du foie (%) |
| Lots I Témoin | 268.68 ±24.87               | 9.04 ±0.58                | 3.37 ±0.00                |
| Lots II       | 268.99 <sup>NS</sup> ±23.29 | 9.15 <sup>NS</sup> ±1.68  | 3.39 <sup>NS</sup> ±0.00  |
| Lots III      | 259.39 <sup>NS</sup> ±23.80 | 8.036 <sup>NS</sup> ±1.15 | 3.11 <sup>NS</sup> ±0.00  |
| Lots IV       | 283.75 <sup>NS</sup> ±25.65 | 9.492 <sup>NS</sup> ±1.00 | 3.34 <sup>NS</sup> ±0.00  |
| Lots V        | 264.08 <sup>NS</sup> ±14.82 | 8.23 <sup>*</sup> ±0.74   | 3.22 <sup>NS</sup> ±0.00  |

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=5).

P > 0,05:(NS) différence non significatives. P > 0,05:(NS) différence non significatives par rapport le lot II.

P = 0,05:(\*) différence significatives. P = 0,05:(c) différence significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,01:(\*\*) différence hautement significatives. P ≤ 0,01:(a) différence hautement significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,001: (\*\*\*) différence très hautement significatives. P ≤ 0,001: (b) différence très hautement significatives par rapport le lot II.

### 3.2. Effet sur les teneurs en enzymes sériques

L'activité antitoxiques a été évaluée à partir des concentrations sériques de la TGO, TGP, PAL et γ-GT chez les lots intoxiqués par l'insecticide et traités par l'extrait brut méthanolique, les résultats sont représentés dans la figure 13:

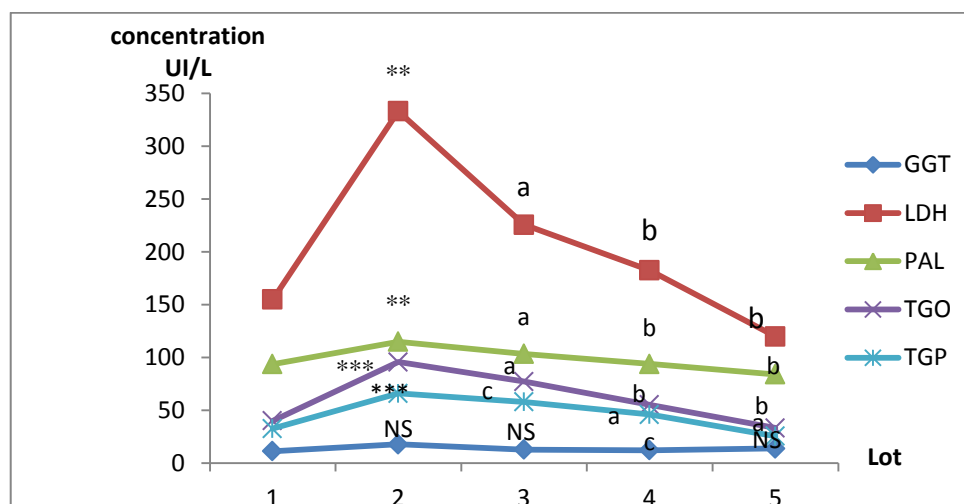


Figure 13: Effet de l'extrait brut méthanolique sur les paramètres enzymatique chez les rats soumises à l'effet de l'insecticide.

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=5).

P > 0,05:(NS) différence non significative par rapport le lot 1. P > 0,05:(NS) différence non significatives par rapport le lot II.

P = 0,05:(\*) différence significatives par rapport le lot 1. P = 0,05:(c) différence significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,01:(\*\*) différence hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,01:(a) différence hautement significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,001: (\*\*\*) différence très hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,001: (b) différence très hautement significatives par rapport le lot II.

### 3.3. Effet sur les paramètres de bilan hépatique

L'influence de l'administration de l'extrait brut de la plante *Cotula cinerea* sur les paramètres de bilan hépatique dosés après le sacrifice des rats traités par l'insecticide est rapportée dans le tableau 07.

Tableau 07 : Effet de l'extrait brut sur les paramètres de bilan hépatique chez les rats traités par l'insecticide.

| Paramètres | Lots            |                            |                            |                          |                          |
|------------|-----------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
|            | Lots I (Témoin) | Lots II                    | Lots III                   | Lots IV                  | Lots V                   |
| BI mg/l    | 7.9 ± 0.86      | 11.22 <sup>**</sup> ± 1.01 | 10.24 <sup>NS</sup> ± 0.55 | 8.26 <sup>b</sup> ± 0.53 | 6.05 <sup>c</sup> ± 1.13 |
| BD mg/l    | 0.75 ± 0.52     | 3.06 <sup>***</sup> ± 0.57 | 2.29 <sup>NS</sup> ± 0.35  | 1.25 <sup>a</sup> ± 0.58 | 0.51 <sup>a</sup> ± 0.05 |

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=5).

P > 0,05:(NS) différence non significative par rapport le lot 1. P > 0,05:(NS) différence non significatives par rapport le lot II.

P = 0,05:(\*) différence significatives par rapport le lot 1. P = 0,05:(c) différence significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,01:(\*\*) différence hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,01:(a) différence hautement significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,001: (\*\*\*) différence très hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,001: (b) différence très hautement significatives par rapport le lot II.

L'insecticide Chlorpyrifos testés entraîne une augmentation de la bilirubine directe (BD) et indirecte (BI). Cependant, les résultats obtenus sont hétérogènes et variables selon les concentrations de l'extrait testé. Le traitement à base d'extrait de la plante sous ses différentes concentrations, provoque une diminution de façon significatif des taux de métabolite étudiée et ce dans tous les cas.

### 3.4. Effet sur les paramètres de bilan rénal

Les résultats de l'activité antitoxique sur le bilan rénal de l'extrait brut de l'espèce végétale *cotula cinerea* chez les rats traités par le pesticide Chlorpyrifos sont présentées dans le tableau 08.

Tableau 08: Effet de l'extrait brut sur les paramètres de bilan rénal chez les rats traités par l'insecticide.

| Paramètres   | Lots            |                           |                           |                           |                           |
|--------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|              | Lots I (Témoin) | Lots II                   | Lots III                  | Lots IV                   | Lots V                    |
| Ac uriq mg/l | 32.32 ± 2.4     | 24.8* ± 2.64              | 23.38 <sup>NS</sup> ± 4.5 | 19.76 <sup>c</sup> ± 3.2  | 20.47 <sup>c</sup> ± 1.68 |
| Créat mg/l   | 7.10 ± 1.85     | 5.75 <sup>NS</sup> ± 0.51 | 6.57 <sup>NS</sup> ± 1.45 | 7.22 <sup>c</sup> ± 3.05  | 6.57 <sup>NS</sup> ± 0.38 |
| Urée g/l     | 0.41 ± 0.07     | 0.40 <sup>NS</sup> ± 0.02 | 0.40 <sup>NS</sup> ± 0.02 | 0.35 <sup>NS</sup> ± 0.03 | 0.30 <sup>c</sup> ± 0.02  |

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=5).

P > 0,05:(NS) différence non significative par rapport le lot 1. P > 0,05:(NS) différence non significatives par rapport le lot II.

P = 0,05:(\*) différence significatives par rapport le lot 1. P = 0,05:(c) différence significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,01:(\*\*) différence hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,01:(a) différence hautement significatives par rapport le lot II.

P ≤ 0,001: (\*\*\*) différence très hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤ 0,001: (b) différence très hautement significatives par rapport le lot II.

Les dosages d'acide urique sérique montre qu'il y a une différence entre les lots : l'augmentation chez le lot témoin (32.32 mg/l), et la diminution remarquée chez les trois lots qui se suite (24.8 mg/l, 23.38 mg/l, 19.76 mg/l, 20.47 mg/l) respectivement. On observe une diminution de la créatinine de deuxième lot (5.75mg/l); les quatre lots qui reste sont presque la même valeur elle variée entre 6 mg/l de 7 mg/l. Pour l'urée l'effet de pesticide et la plante a concentration de 100mg/l n'est pas apparaitre. Mais pour 200 et 400g/l est baisse de 0,35 à 0,30 g/l.

### 3.5. Effet sur l'ionogramme

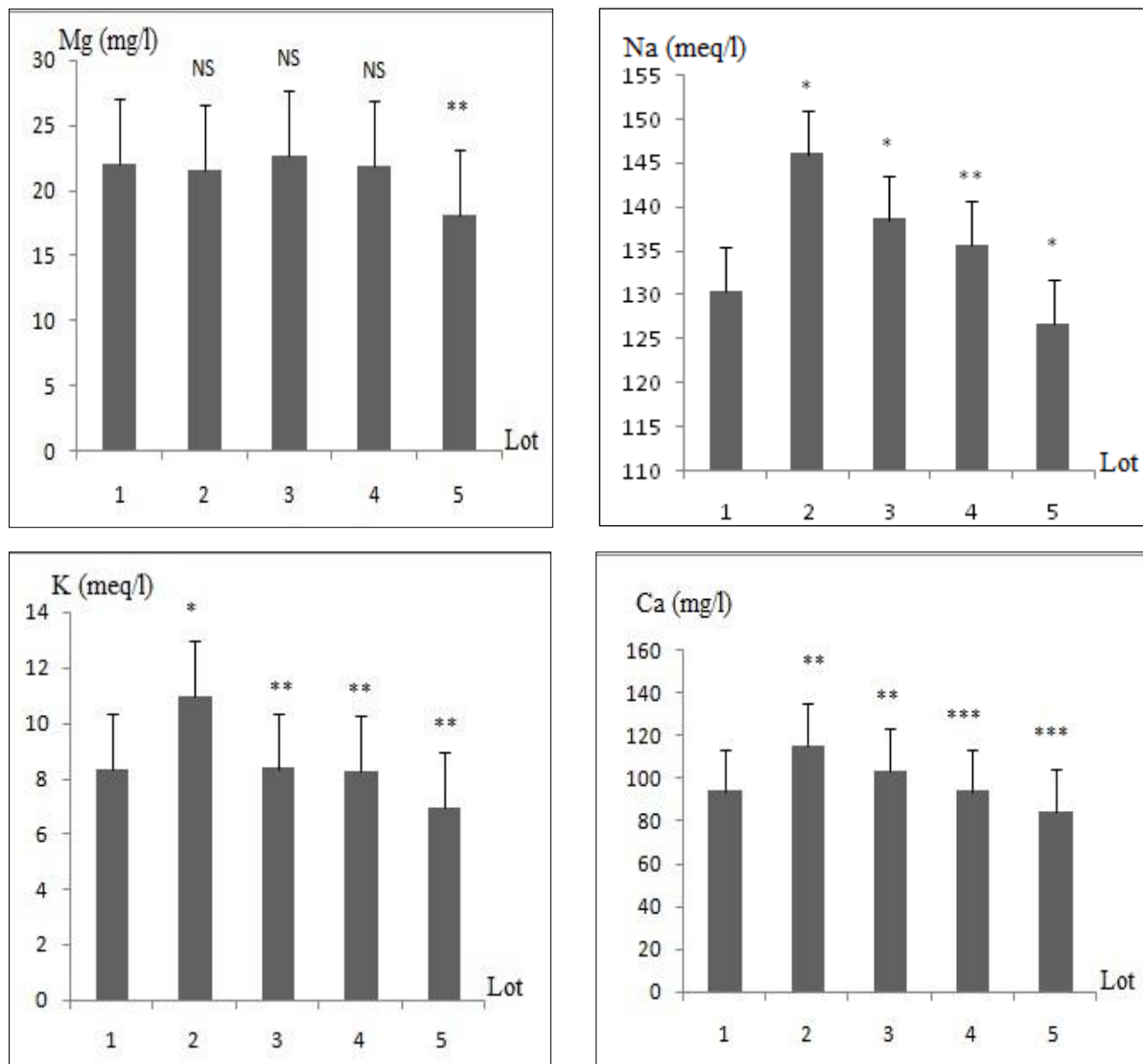


Figure 14: Variation des ions Ca, Mg, K, Na sous effet de pesticide et la plante chez les rats de Wistar.

Le calcium, le potassium et le sodium : ces trois ions sont augmentés chez le deuxième lot par rapport au premier lot témoin; la diminution est importante entre les lots deux et trois; la variation est toujours significative. ( $p \geq 0.05$ ), le Mg sérique n'est pas modifié de façon touchable elle est variée entre 22 et 21 mg/l, à l'exception entre lot quatre et cinq il y a une diminution significative.

### 3.6. Effet sur les autres paramètres biochimiques

Les résultats des autres paramètres sériques : Cholestérol, Triglycérides, Les Lipides Totaux, Protéines totaux, Glycémie sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 09: Effet de l'extrait brut sur les autres paramètres biochimiques lipidiques chez les rats traités par l'insecticide.

| Paramètres | Lots               |                           |                          |                          |                          |
|------------|--------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|            | Lots I<br>(Témoin) | Lots II                   | Lots III                 | Lots IV                  | Lots V                   |
| Chol g/l   | 0.55 ±3.4          | 0.62 <sup>NS</sup> ±0.06  | 0.5 <sup>NS</sup> ±0.0   | 0.59 <sup>NS</sup> ±0.04 | 0.56 <sup>NS</sup> ±0.5  |
| TG g/l     | 0.92 ±0.00         | 1.24 <sup>NS</sup> ±0.2   | 0.86 <sup>NS</sup> ±0.2  | 0.98 <sup>c</sup> ±0.16  | 0.65 <sup>c</sup> ±0.1   |
| Lip T g/l  | 31.95 ±3.46        | 41.63 <sup>NS</sup> ±9.66 | 30.2 <sup>NS</sup> ±6.64 | 32.85 <sup>NS</sup> ±6.4 | 29.47 <sup>c</sup> ±3.35 |
| PrT mg/l   | 66.8 ±2.38         | 71.66 <sup>NS</sup> ±2.96 | 66.88 <sup>a</sup> ±1.80 | 65.88 <sup>c</sup> ±1.25 | 61.75 <sup>c</sup> ±1.76 |
| Gly g/l    | 0.99 ±0.10         | 0.91 <sup>NS</sup> ±0.19  | 0.87 <sup>NS</sup> ±0.09 | 0.78 <sup>NS</sup> ±0.10 | 0.90 <sup>NS</sup> ±0.06 |

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=5).

P> 0,05:(NS) différence non significative par rapport le lot 1. P> 0,05:(NS) différence non significatives par rapport le lot II.

P = 0,05:(\*) différence significatives par rapport le lot 1. P = 0,05:(c) différence significatives par rapport le lot II.

P ≤0,01:(\*\*) différence hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤0,01:(a) différence hautement significatives par rapport le lot II.

P ≤0,001:(\*\*\*) différence très hautement significatives par rapport le lot 1. P ≤0,001: (b) différence très hautement significatives par rapport le lot II.

Les résultats obtenus montrent une augmentation des taux plasmatiques en cholestérol, triglycérides, lipides totaux et les protéines totaux chez le groupe traité par le chlorpyrifos comparant aux rats témoins. L'effet du toxique sur la concentration sérique de glucose se manifeste par une leur diminution .d'autre part, l'extrait de *cotula cinarea*, en parallèle aux les concentrations, va abaisse l'augmentation de façon observable (P≥0.05).

# **DISCUSSION**

## DISCUSSION

Les travaux antérieurs montrent que les solvants tels que : le méthanol, l'éthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (SAHREEN *et al.*, 2010; XIA *et al.*, 2010; BOUZID *et al.*, 2011). Le méthanol est le solvant utilisé dans cette étude pour obtenir l'extrait brut à partir des feuilles de l'espèce végétale *Cotula cinerea*.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des conditions du développement et de croissance, la maturité, le conditionnement, les conditions de stockage et par les méthodes d'extraction (ZANG et HAMAURU, 2003) En plus de ces aspects quantitatives, quelque soit la méthode d'extraction appliquée elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bio-activité de ces principes actifs. Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Parmi les paramètres étudiés, l'augmentation remarquable du poids relatif de foie nous indique une hépatomégalie provoquée par le produit phytosanitaire l'insecticide à la concentration de 9 mg/kg/j. Cette anomalie du foie est un phénomène signalé par de nombreux auteurs à la suite de l'agression par des substances chimiques (HUANG *et al.*, 2012).

Une baisse dans les teneurs en enzymes sériques TGP, TGO et PAL chez les rats en présence de l'extrait végétal. Les enzymes sériques TGO, TGP, PAL,  $\gamma$ -GT sont des enzymes synthétisés au niveau du cytoplasme de la cellule et déchargées dans la circulation en cas de cellules endommagées (SINGH *et al.*, 1998, OZTURK *et al.*, 2009). Ces derniers sont considérés comme de bons indicateurs de la cytolyse hépatique. Ainsi, des taux élevés des enzymes du foie, notamment TGO et TGP, sont fréquemment attribués aux effets métaboliques et/ou toxiques de différentes drogues comme les psychotropes (HIMMERICH *et al.*, 2005), l'alcool (LIAPPAS *et al.*, 2006) et les agents polluants tels que les résidus de l'industrie (MICHAILOVA *et al.*, 1998). Dans notre cas, une variation dans les taux sériques

de TGP et TGO entre les lots des rats intoxiqués par l'insecticide et traités par les trois doses de l'extrait brut méthanolique de la plante (Taux relativement faibles) et ceux des rats intoxiqués mais non traités (Concentrations élevées). Nos résultats sont en accord avec les investigations d'ELBERRY et *al.*, 2010 sur des rats intoxiqués et non traités qui signalent une augmentation de la concentration sérique de TGP. Cette augmentation est moins accrue chez les sujets intoxiqués et traités.

L'évolution des concentrations sériques de  $\gamma$ -GT montre, elle aussi, une élévation plus importante chez les animaux non traités que chez les animaux traités. Ce résultat traduit également une certaine protection du foie par l'extrait de l'espèce *Cotula cinerea*, en particulier des voies biliaires; en effet, selon KAMMERAAT cité par ROUSSEAU (1978), l'augmentation de la concentration sérique de la  $\gamma$ -GT est un bon indicateur de l'atteinte des cellules épithéliales des canaux biliaires.

Les concentrations sériques de la Bilirubine montre, D'une part, est l'un des biomarqueurs les plus sensibles et directement impliqués dans l'ampleur des dommages et de la toxicité hépatique, et d'autre part l'élévation de la Bilirubine plasmatique (Totale et Directe) indique le dysfonctionnement dans le foie. Nos résultats montrent une augmentation en bilirubine chez les rats administre le pesticide par rapport les rats témoins. Ces observations sont en accord avec d'autres études (YOUSEF et *al.*, 2003; EI-DEMERDASH et *al.*, 2004; YOUSEF, 2004; BEN AMARA et *al.*, 2011).

En ce qui concerne les autres métabolites biochimiques : Triglycéride, Cholestérol, marqueurs rénaux (Créatinine, Urée, Acide urique) et glucose, ils semblent être affectés par les inducteurs toxiques (insecticide). Une perturbation des taux de lipides et des marqueurs rénaux. Plusieurs études expérimentales intéressées aux effets des pesticides sur le profil lipidique. L'administration de pesticide, induit chez le rat une hépatotoxicité et une modification de profil lipidique qui se manifeste par une augmentation du taux de Cholestérol et des Triglycérides plasmatiques, et selon (BOUZIANE, 2002) l'altération du profil lipidique peut être due à une modification sur l'activité des enzymes qui jouent un rôle dans le métabolisme des lipides.

Le sodium est le cation majeur de liquide extracellulaire avec le potassium, joue un rôle essentiel dans l'équilibre hydrique (JANSSEENS, 1999). L'augmentation de ces paramètres (Sodium et Potassium) nous indique une insuffisance rénale ou une libération excessive à

partir des cellules en cas d'hémolyse massive. Ces mêmes hypothèses sont avancées dans les travaux de BENZIDANE, 2012 pour le potassium.

**CONCLUSION  
ET PERSPECTIVES**

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Les résultats obtenus mettent en exergue, l'effet prometteur de l'extrait brut des feuilles du *Cotula cinareia* quant à leur pouvoir antitoxique contre l'intoxication aiguë provoquée par l'insecticide Chlorpyrifos.

Le pouvoir de l'extrait brut contre le déséquilibre du statut redox cellulaire a été étendu à une toxicité induite par un pesticide. Les résultats obtenus ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante étudiée présente des activités antitoxique assez intéressantes. Une diminution dans la concentration des paramètres biochimiques et les paramètres enzymatiques notamment les transaminases (TGO et TGP) est notée chez les rats traités par rapport à celles des témoins non traités. Ce potentiel efficace pourrait être lié aux polyphénols totaux de l'extrait brut testé.

Nos perspectives pour l'avenir :

- L'effet antitoxique observé pourrait être amélioré par l'utilisation des concentrations plus faibles que celles testées, mais aussi l'investigation de mélanges d'extrait à base de plusieurs plantes.
- Approfondir les études concernant l'identification de ces principes actifs du point de vue qualitatif et quantitatif.
- Déterminer les chémotypes exacts et complets par CG/SM, HPLC et RMN.
- Envisager des expériences in situ en testant ces principes sur des cas pathologiques.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDENBI A., ABDELWAHED D E., BOUAAZA M et TOUATI B., 2014- Screening phytochimique et activite antibacterienne De l'huile Essentielle de *Cotulacinerea* (gartoufa) dans la region de bechar. Impact journals .Vol. 2.no 2.P 49-54.
- ALEXANDROVA ML et BOCHEV PG .,2007- Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. Elsevier BV.(1):313-368.
- ALLANE T., 2009- Etude des pouvoirs antioxydant et antibactérien de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. Université Hamed Bougara Boumerdes. Mag.P134.
- AUISSA IWR.,2002-etudedesactivites Biologiques et de latoxicite aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *mangifera indicat*. Diplôme d'état .Université De Bamako.PPharmacie.P128.
- BAYNES RE et HODGSON E .,2010- Absorption and Distribution of Toxicants. Textbook of Modern Toxicology. Hoboken, New Jersey. (4):79-114.
- BEN BRINIS S., 2012- Evaluation des activités antioxydants et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus .Mag. Université Ferhat Abbas-Setif.P62.
- BENSIZRARA D .,MENASRIA T., MELOUKA M., CHERIET L et CHENCHOUNI H., 2013- Antimicrobial Activity of Xerophytic Plant ( *Cotula cinerea Delile*) Extracts Against Some Pathogenic Bacteria and Fungi.Jordan Journal of Biological Sciences. Vol 6. (4).P266-271.
- BENZIDANE C., 2012-Effet toxique des résidus des pesticides utilisés sur la flore de la région de Sétif. Mag. Université de Farhat Abbas Setif.P87.
- BOUZIANE M., 2002-Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : *Cotula cinerea* de la région d'Ouargla. Mag. Université Ouargla. P53.
- BOUZID W., 2009-Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. MAG .Université -El Hadj Lakhder.P69.
- BOUZID W, YAHIA M, ABDEDDAIM M, ABERKANE M C ET AYACHI A .,2011- Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubepine Monogyne. Lebanese Science Journal.vol 121. 59-69.
- BOUGANDOURA N., 2001-Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Saturejacalaminthassp nepta (nabta) et *Ajugaiwa* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. . Mag. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen. P58.
- BRICE N.,2009- synthèse et évaluation de nouveaux agents de protetion contre les rayonnements ionisants. Doc. Université paris sud XI. P260.

- BRUNETON J., 1999- Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes Médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed., TEC & DOC, Paris. P 239-510.
- CHOUIKH A et CHEFROUR A., 2012- Seasonal, biometric and dynamic monitoring of the Shihia plant *Cotula cinerea* Del (1831) and its accompanying plants in the Saharan region Oued-Souf (south-east of Algeria). International Journal of Science and Research Vol 3(7): 826-832.
- DJELLOULI M., MOUSSAOUI A., BENMEHDI H., ZIANE L., BELABBES A., BADRAOUI ., SLIMANI N et HAMIDI N., 2013- Ethnopharmacological study and phytochemical Screening of three plants (asteraceae family) from the region of south west Algeria. Asian journal of natural & applied sciences .Vol. 2 (2): 59-65.
- ELBERRY A., FATHALLA M., HARRAZ A., GHAREIB S., AYMAN A., NAGY S.A., GABR M.I., ABDEL-SATTAR E., 2010- antihepatotoxic effect of *Marrubium vulgare* and *Withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Journal of Basic and Clinical Pharmacy. Vol 1. (4): 247-254.
- FERNANDEZ M., 2003- De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions. Ed Aenigma. P 09.
- GEROLANI R ., 2005- Manifestations de l'action des toxiques au niveau hépatique. Toxicologie. (2):167-172.
- GUENZET A., 2012- Effets des extraits aqueux lyophilisés de *Portulaca oleracea* et *Zygophyllum gaetulum* sur le profil lipidique et le statut redox, chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine. MAG. Université d'Oran .P74.
- GUILLOUZO A., CLERC C., MALLEDANT Y., CHESNE C., RATANASAVANH D., GUGEN-GUILLOUZO C., 1989-Modèles d'étude de la cytoprotection hépatique. Gastroentérologie Clinique et Biologique. 725-730.
- GREGER H et HOFER O., 1985- SESQUITERPENE-COUMARIN ETHERS AND POLYACETYLENES FROM *BROCCHIA CZNEREA*. Phymhemicy. Vol 24(1):85-88.
- HIKINO H.K., WAGNER H Y., FIEIG M., 1984-Antihépatotoxic actions of flavonolignans from *Silybum marianum* fruits. Planta Medica.( 50): 248-50.
- HIMMERICH H., KAUFMANN C., SCHULD A., POLLMACHER T., 2005- Elevation of liver enzyme levels during psychopharmacological treatment is associated with weight gain. Journal of Psychiatric Research. (39): 35-42.
- HODGSON E et CUNNY H., 2010- Toxicity Testing: A Textbook of Modern Toxicology. Hoboken, New Jersey. (4):409-456.

- HUANG Q.F., ZHANG S.J., ZHENG L., HE M., HUANG R.B., LIN X. 2012. Hepatoprotective effects of total saponins isolated from *Taraphochlamys affinis* against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*. (50): 713-718.
- KANNOUN K., 2011-Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).Mag .Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen.P96.
- LACARELLE B et VIALA A.,2005-Manifestations de l'action des toxiques au niveau rénal. *Toxicologie*. (2):173-177.
- LAPOINTE G., 2004-Notions de Toxicologie: Commission de la santé et de la sécurité du travail (2): 16-20.
- LAROUSSE., 2001- Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. P 28-31.
- LEBLANC GA., 2010- Acute toxicity: A Textbook of Modern Toxicology. Hoboken, New Jersey.(4):125-236.
- LIAPPAS I., PIPERI C., MALITAS P N., TZAVELLAS E.O., ZISAKI A., LIAPPAS A.I., KALOFOUTIS C.A., BOUFIDOU F., BAGOS P., RABAVILAS A., KALOFOUTIS A., 2006- Interrelationship of hepatic function, thyroid activity and mood status in alcohol-dependent individuals In vivo. 20: 293-300.
- MAIZA K et HAMMICHE V., 1993- Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentriona. Médicaments et Aliments : L'approche Ethnopharmacologique .P160:171.
- MARKOUK M., LAZREK H B et JANA M., 1999-analgesic effect of extracts from *cotula cinerea*.phytoterapy research.vol13.P 229:230.
- MCCOLLISTER S.B., KOCIBA R.J., HUMISTON CG., MCCOLLISTER D.D., GEHRING P.J., 1974- Studies of the acute and long-term oral toxicity of chlorpyrifos (O, O-diethyl-O-(3, 5, 6- trichloro-2-pyridyl)phosphorothioate). *Food Cosm. Toxicol*. Vol 12.45-61.
- Matkowski A, Piotrowska M (2006). Antioxidant and free radicalscavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae.*Fitoterapia*. 77: 346-353.
- METWALLY M. A., EL-DAHMY S., Jlutupovc F., BOHLMANN., DAWDAR A. M. et ALLY S. A. M., 1986-GLAUCOLIDE-LIKE SESQUITERPENE LACTONES FROM *Cotula Cinerea*.*phytochemistry*.vol 25 .(1):225-227.
- MEZITI A., 2009-Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa*étude in vitro et in vivo. MAG. Université El-Haj Lakhdar.Batna.P71.

- MICHAILOVA A., KUNOVA T., POPOV T., A 1998-Comparative assessment of liver function in workers in the petroleum industry, *International Archives of Occupational and Environmental Health*. (71): 46-49.
- MORA V., PAIRON JC., GARNIER R., LAUREILLARD J., LIONNET F., HOGUET L., SCHAEFFER A., EFTHYMIU ML et BROCHARD P., 1992 Intoxication aiguë par l'hydrogène arsénié dans une fonderie de métaux ferreux, *Archives des maladies professionnelles*. n°3.( 53):167-173.
- MUANDA F N., 2010-Identification de poly phénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Doc .Ecole doctorale SESAMES.P239.
- NAIT SAID N., 2007-Etude phytochimique des extraits Chloroformiques des plantes: « PITURANTHOSCHLORANTHUS » et « MARRUBIUM VULGARE ». MAG .Université El-Hadj Lakhdar Batna. P112.
- OUATTARA Y., 1999-Etude de l'activité des extraits aqueux de plantes hépatotropes sur le foie de souris soumises à une intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone .université de Ouagadougou. Doc 3<sup>ème</sup> Cycle.P96.
- OZENDA P., 1977- flore du Sahara. 2<sup>ème</sup> Ed. Editions du centre nationale de la recherche scientifique, Paris. P 622.
- OZTURK I.C., OZTURK F., GUL M., ATES B., CETIN A., 2009. Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of *Wistar* rats. *Cell Biochemistry and Function*. 27: 309-315.
- PANDEY KB et RIZVI SI., 2011-Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. *Biomedical paper of medicine faculty*.(155): 131-136.
- P.D.A.U.willaya d'El Oued 1997.
- PHAM-HUY LA, HE H, et PHAM-HUY C., 2008-Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Medicine*. (4): 89-96.
- QUEZEL P et SANTA S., 1963-nouvelle flore de l'algerie et des régions désertiques méridionales.Vol II.Ed: centre nationale de la recherche scientifique, Paris. P 1170.
- REICHL FX., 2004 -Guide pratique de toxicologie. 2<sup>ème</sup> Ed. *DeBoeck et Larcier* Bruxelles. 16.
- RHIOUANI H., EL-HILALY J., ISRAILI ZH., et LYOUSSI B .,2008- Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. (118): 378-386.
- ROUSSEAU PAJ., 1978- Intérêt diagnostique du dosage de certains enzymes plasmatiques en pathologie hépatique bovine : Étude bibliographique expérimentale. doc . Université Paris-Est Créteil. P 89.

- SAHREEN S., KHAN M R ET KHAN R A., 2010-Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry.Vol (122): 1205-1211.
- SINGH B., SAXENA A.K., CHANDAN B.K., ANAND K.K., SURI O.P., SURISATTI K.A., SURISATTI N.K., 1998- Hepatoprotective activity of verbenaquin on experimental liver damage in rodents. Fitoterapia. (69): 134-140.
- TARLOFF JB et WALLACE AD., 2010-Nephrotoxicity: A Textbook of Modern Toxicology.Hoboken, New Jersey. (4): 291-302.
- TIMBRELL J .,2000- Principles of biochemical toxicology. *Taylor et Francis*. (3):1-390.
- TOMAS M., 2011-Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne .Mag.Université Mentouri Constantine. P75.
- VERDRAGER J., 1978- Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. Maloine S.A. P. 12-15.
- WALLACE AD et MEYER SA., 2010-Hepatotoxicity: A Textbook of Modern Toxicology.. Hoboken, New Jersey. (4): 277-290.
- XIA E Q., DENG G F., GUO Y J AND LI H B., 2010-Biological activities of polyphenols from grapes. International Journal of Molecular Sciences, vol 11.622-646.
- YEKHELEF G.,2010-Etude De L'activité Biologique Des Extraits De Feuilles De *Thymus Vulgaris* L.Et *Laurus Nobilis*L. Mag. Université El Hadj Lakhdar –Batna. P69.
- Zang D., Hamauru Y., 2003- Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of green, red and yellow bell peppers, J. Food, Agric. Environ. Vol 1.22-27.
- ZARROUR B., 2012.-Etude phytochimique de quelques extraits obtenus du plante *Matricaria pubescens* (Asteracées) et évaluation de leur activité antioxydante. MAS Université Kasdi Merbah Ouargla. P47.

Cite d'internet:

-([http://cabanedetellus.free.fr/Flore\\_Familles\\_Tellus.html#Asteracées](http://cabanedetellus.free.fr/Flore_Familles_Tellus.html#Asteracées))

-([www.treknature.com](http://www.treknature.com))

# Phosphatase alcaline

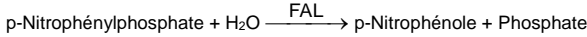
p-Nitrophénylphosphate cinétique.  
DGKC

## Détermination quantitative de phosphatase alcaline (FAL) IVD

Conserver à 2-8°C

### PRINCIPE DE LA METHODE

La phosphatase alcaline (FAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICATION CLINIQUE

Les phosphatases alcalines sont des enzymes qui se trouvent dans presque tous les tissus de l'organisme, mais particulièrement concentrée dans les os, le foie, le placenta, les intestins et les reins.

L'augmentation, aussi bien que la réduction des niveaux dans le plasma ont une signification clinique.

Les causes les plus probables d'augmentation du niveau de FAL:

Maladie osseuse de Paget, obstructions hépatiques, hépatite, hépatotoxicité provoquée par des médicaments ou par de l'ostéomalacie.

Les causes les plus probables de réduction du niveau de FAL:

Crétinisme et manque de vitamine C<sup>1,5,6</sup>.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant compte des données cliniques et de laboratoire.

### REACTIFS

|            |                               |            |
|------------|-------------------------------|------------|
| <b>R 1</b> | Diéthanolamine (DEA) pH 10,4  | 1 mmol/L   |
| Tampon     | Chlorure de magnésium         | 0,5 mmol/L |
| <b>R 2</b> | p-Nitrophénylphosphate (pNPP) | 10 mmol/L  |
| Substrats  |                               |            |

### PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001130

Dissoudre (→) une tablette de substrats de R 2 dans une capsule de tampon R 1.

Réf: 1001131

Dissoudre (→) une tablette de substrats de R 2 dans 15 mL de tampon R 1.

Réf: 1001132

Dissoudre (→) le contenu d'une capsule de substrats de R 2 dans 50 mL de R 1.

1.

Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 5 jours à température ambiante (15-25°C).

### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.

- Absorption du blanc à 405 nm  $\geq 1,30$ .

### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 405 nm.

- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )

- Equipement classique de laboratoire.

### ECHANTILLONS

Sérum ou plasma heparinisé<sup>1</sup>.

Sérum ne contenant pas d'hémolyse, séparé des hématies le plus tôt possible.

Stabilité: 3 jours à 2-8°C.

### PROCEDURE

1. Conditions de test:

Longueur d'ondes: ..... 405 nm

Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage

Température: ..... 25°C/30°C/37°C

2. Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air

3. Pipetter dans une cuvette:

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| RT (mL)                       | 1,2 |
| Echantillon ( $\mu\text{L}$ ) | 20  |

4. Mélanger, laisser incubé 1 minute.

5. Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.

6. Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$$

**Unités:** L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1  $\mu\text{mol}$  de substrats par minute, sous des conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

### Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

| Température de mesure | Facteur de conversion à |      |      |
|-----------------------|-------------------------|------|------|
|                       | 25°C                    | 30°C | 37°C |
| 25°C                  | 1,00                    | 1,22 | 1,64 |
| 30°C                  | 0,82                    | 1,00 | 1,33 |
| 37°C                  | 0,61                    | 0,75 | 1,00 |

### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

### VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>

|                    | 25°C        | 30°C         | 37°C         |
|--------------------|-------------|--------------|--------------|
| Enfants (1-14 ans) | < 400 U/L   | < 480 U/L    | < 645 U/L    |
| Adultes            | 60 -170 U/L | 73 - 207 U/L | 98 - 279 U/L |

Les facteurs qui peuvent affecter les valeurs de référence sont: l'exercice, les périodes de croissance chez l'enfant et la femme enceinte.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

**Gamme de mesures:** Depuis la limite de détection 0,000 U/L jusqu'à la limite de linéarité 1200 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

### Précision:

|               | Intra-série (n= 20) |      | Inter-série (n= 20) |      |
|---------------|---------------------|------|---------------------|------|
| Moyenne (U/L) | 167                 | 424  | 166                 | 430  |
| SD            | 0,94                | 1,93 | 3,44                | 5,92 |
| CV (%)        | 0,56                | 0,46 | 2,07                | 1,38 |

**Sensibilité analytique:** 1 U/L = 0,0003  $\Delta A/\text{min}$

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,999.

Equation de la Courbe de régression:  $y=0,999x - 0,918$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

### INTERFERENCES

Le fluorure oxalate, le citrate et l'EDTA inhibent l'activité de la phosphatase alcaline; ils doivent donc être utilisés comme des anticoagulants.

L'hémolyse interfère dans le résultat, étant donné sa forte concentration en phosphatase alcaline dans les hématies<sup>1,2</sup>. Différentes drogues ont été décrites et ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la phosphatase alcaline<sup>3,4</sup>.

### REMARQUES

**SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

### BIBLIOGRAPHIE

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTATION

Réf: 1001130

R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL

Réf: 1001131

R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Réf: 1001132

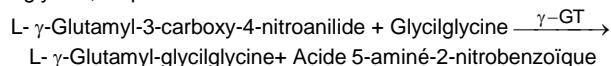
R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

### Détermination quantitative de gamma-glutamyl transférase (γ-GT) IVD

A conserver entre 2-8°C

#### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La gamma-glutamyl transférase (γ-GT) catalyse le transfert d'un groupe γ-glutamyl de la γ-glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine, d'après la réaction suivante :



La vitesse de formation de l'acide 5-aminé-2-nitrobenzoïque déterminé par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de γ-GT dans l'échantillon testé<sup>1,2</sup>.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE

La gamma-glutamyl transférase (γ-GT) est une enzyme qui est présente dans quasiment tous les tissus de l'organisme, elle apparaît notamment dans le foie, le pancréas, les reins et la prostate.

La détermination des niveaux de gamma-glutamyl transférase (γ-GT) est la méthode la plus utile pour diagnostiquer et traiter les maladies hépatobiliaires telles que l'obstruction hépatique, la cirrhose ou les tumeurs hépatiques<sup>1,2,5,6</sup>

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

#### RÉACTIFS

|                 |  |                        |
|-----------------|--|------------------------|
| R 1<br>Tampon   | TRIS pH 8,25   | 100 mmol/L             |
| R 2<br>Substrat | Glycylglycine<br>L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide | 100 mmol/L<br>3 mmol/L |

#### PRÉPARATION

Réactif de travail (RT) :

Réf: 1001185

Dissoudre (→) un comprimé de R 2 Substrat dans un flacon de R 1

Tampon.

Réf: 1001186

Dissoudre (→) un comprimé de R 2 Substrat dans 15 mL de R 1 Tampon.

Réf: 1001187

Dissoudre (→) le contenu d'un flacon de R 2 Substrat dans 50 mL de R 1.

Couvrir et mélanger délicatement jusqu'à dissoudre son contenu.

Stabilité : 21 jours à 2-8°C ou 15 jours 15-25°C (15-25°C).

#### CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8°C et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.

Ne pas utiliser les tablettes si elles semblent fragmentées.

Ne pas utiliser les réactifs une fois passée la date indiquée.

#### Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbances du témoin à 405 nm ≥ 1,20.

#### ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 405 nm.
- Bain thermostatable à 25°C, 30°C ou 37°C (± 0,1°C)
- Cuves appariées de 1.0 cm de raie spectrale.
- Équipement d'usage général pour laboratoire.

#### ÉCHANTILLONS

Sérum<sup>1</sup>. La γ-GT est stable pendant 3 jours à 2-8°C, 8 heures à 15-25°C et 1 mois à -20°C.

#### PROCÉDURE

- Conditions d'essai:  
Longueur d'onde: ..... 405 nm  
Cuvette: ..... 1 cm. de raie spectrale  
Température constante ..... 25°C / 30°C / 37°C
- Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée ou air.
- Pipette dans une cuvette:

|                  |     |
|------------------|-----|
| RT (mL)          | 1,0 |
| Échantillon (µL) | 100 |

- Mélanger, patienter 1 minute.
- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en marche le chronomètre et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.

- Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute (ΔA/min).

#### CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$$

**Unités** : L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 µmol de substrat par minute, en conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre (U/l).

#### Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent être transformés à d'autres températures en multipliant par :

| Température de mesure | Facteur de conversion à |      |      |
|-----------------------|-------------------------|------|------|
|                       | 25°C                    | 30°C | 37°C |
| 25°C                  | 1,00                    | 1,37 | 1,79 |
| 30°C                  | 0,73                    | 1,00 | 1,30 |
| 37°C                  | 0,56                    | 0,77 | 1,00 |

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser des sérums de contrôle estimés en même temps que les échantillons: SPINTROL H normal et pathologique (réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs obtenues se trouvent en dehors de la plage de tolérance, il faut revoir les instruments, les réactifs et la technique.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre système de contrôle de qualité et établir des actions correctives si les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances.

#### VALEURS DE RÉFÉRENCE<sup>1</sup>

|        |          |          |           |
|--------|----------|----------|-----------|
|        | 25°C     | 30°C     | 37°C      |
| Femmes | 4-18 U/L | 5-25 U/L | 7-32 U/L  |
| Hommes | 6-28 U/L | 8-38 U/L | 11-50 U/L |

Ces valeurs sont approximatives. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

#### CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

**Gamme de mesure**: de la limite de la détection de 0,000 U/L à la limite de linéarité de 375 U/L.

Si les résultats obtenus sont plus élevés que la limite de linéarité, il faut diluer 1/2 avec CINA 9 g/l et multiplier le résultat par 2.

#### Précision:

|               | Intra-essai (n= 20) |      | Inter-essai (n= 20) |      |
|---------------|---------------------|------|---------------------|------|
| Moyenne (U/L) | 40,0                | 199  | 41,6                | 200  |
| SD            | 0,33                | 1,20 | 0,80                | 2,29 |
| CV (%)        | 0,83                | 0,61 | 1,91                | 1,15 |

**Sensibilité analytique**: 1 U/L = 0,0008 ΔA/min.

**Exactitude**: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de régression (r) : 0,999.

Équation de la droite de régression : y=1,2253x - 2,0435.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier en fonction de l'analyseur utilisé.

#### INTERFÉRENCES

Ne pas utiliser de plasma. Les anticoagulants inhibent l'enzyme. L'hémolyse élevée interfère dans l'essai<sup>1</sup>. Il a été rapporté que plusieurs drogues et autres substances interfèrent dans la détermination de la γ-GT<sup>3,4</sup>.

#### NOTES

**SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

#### BIBLIOGRAPHIE

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

#### PRÉSENTATION

Réf: 1001185 

|       |
|-------|
| Cont. |
|-------|

 R1: 20 x 2 mL ,R2: 20 → 2 mL

Réf: 1001186 R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Réf: 1001187 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

## Quantitative determination of transaminases GOT and GPT IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

The glutamic transaminase enzymes, serum glutamic oxalacetic (GOT) and serum glutamic pyruvic (GPT), catalyse the transfers of the amino group of glutamic acid to oxalacetic acid and pyruvic acid in reversible reactions. The transaminase activity is proportional to the amount of oxalate or pyruvate formed over a definite period of time and is measured by a reaction with 2,4- Dinitrophenylhydrazine (DNPH) in alkaline sol.<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Transaminases GOT and GPT are cellular enzymes, found in highest concentration in heart muscle, the cells of the liver, the cells of the skeletal muscle and in smaller amounts in other tissues. Although an elevated level of GOT and GPT in the serum is not specific of the hepatic disease, is used mainly to diagnostic and to verify the course of this disease.

When GOT is used in conjunction with GPT aid in the diagnosis of infarcts in the myocardium, since the value of the GPT stays within the normal limits in the presence of elevated levels of GOT<sup>1,2,5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|                         |                 |        |            |
|-------------------------|-----------------|--------|------------|
| Ref: 1001165 <b>GOT</b> |                 |        |            |
| <b>R 1 a</b>            | DL-Aspartate    | pH 7.4 | 100 mmol/L |
| Substrate GOT           | α-Ketoglutarate |        | 2 mmol/L   |

|                         |                 |        |            |
|-------------------------|-----------------|--------|------------|
| Ref: 1001175 <b>GPT</b> |                 |        |            |
| <b>R 1 b</b>            | DL-Alanine      | pH 7.4 | 200 mmol/L |
| Substrate GPT           | α-Ketoglutarate |        | 2 mmol/L   |

|                               |   |  |          |
|-------------------------------|---|--|----------|
| <b>R 2</b>                    | 2,4-Dinitrophenylhydrazine (DNPH)             |  | 1 mmol/L |
| Developer                     |   |  |          |
| <b>GOT / GPT -R&amp;F CAL</b> | Primary calibrator of pyruvic acid 1.2 mmol/L |  |          |

**Adicional reagent:** Sodium hydroxide (NaOH) 0.4 N

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm.
- Thermostatic bath at 37°C (± 1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

Serum<sup>1,2</sup>: Stability 7 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 505 nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Constant temperature ..... 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled.
- Pipette into a tubes:

|                            |        |        |
|----------------------------|--------|--------|
|                            | GOT    | GPT    |
| <b>R 1 a</b> Substrate GOT | 0.5 mL | --     |
| <b>R 1 b</b> Substrate GPT | --     | 0.5 mL |

- Mix, incubate for 5 min. at 37°C, add.

|        |        |        |
|--------|--------|--------|
| Sample | 100 µL | 100 µL |
|--------|--------|--------|

- Mix. Return to the bath for: 30 min. 30 min.

|                      |        |        |
|----------------------|--------|--------|
| <b>R 2</b> Developer | 0.5 mL | 0.5 mL |
|----------------------|--------|--------|

- Mix. Allow to stand for 20 min at room temperature.

|            |        |        |
|------------|--------|--------|
| NaOH 0,4 N | 5.0 mL | 5.0 mL |
|------------|--------|--------|

- Mix. Let stand for 5 min. at room temperature.
- Read the initial absorbance (A) against a water blank. The color is stable at least 1 hour.

### CALCULATIONS

From absorbances, read units of GOT or GPT from the corresponding calibration curves.

### Calibration curve

- Set up six tubes and pipette (mL):

| Tube          | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Water         | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| GOT Substrate | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 0.5 |
| Calibrator    | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| DNPH          | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |

Mix. Allow to stand for 20 minutes at room temperature.

|            |      |      |      |      |      |      |
|------------|------|------|------|------|------|------|
| NaOH 0.4 N | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
|------------|------|------|------|------|------|------|

Mix. Allow to stand for at least 5 minutes.

- Read against a water blank at 505 nm.
- Plot a calibration curve of the absorbances found vs. The corresponding units, on a graph paper, according to the following:

|     |       |   |    |    |    |     |     |
|-----|-------|---|----|----|----|-----|-----|
| GOT | WU/mL | 0 | 22 | 55 | 95 | 150 | 215 |
|     | U/L   | 0 | 11 | 27 | 46 | 72  | 104 |
| GPT | WU/mL | 0 | 25 | 50 | 83 | 126 | --  |
|     | U/L   | 0 | 12 | 24 | 40 | 62  | --  |

### Units

- One Wroblewski unit (WU) of GOT or GPT is defined as the amount of enzyme that will form 4.82 x 10<sup>-4</sup> µmole of Glutamate/min (25°C).
- To convert WU into international units (U/I), multiply results by 0.482.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

**GOT:** 8-40 UW / ml (3-18 U/L) **GPT:** 5-30 UW / ml (2-16 U/L)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** Up to linearity limit of GOT 180 WU (85 U/L) and GPT 126 WU (62 U/L).

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x). The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Haemolysis interferes with the assay<sup>1,2</sup>. A list of drugs and other interfering substances with GOT - GOT determination has been reported by Young et. al<sup>3,4</sup>.

### NOTES

**SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
- Reitman S, Frankel S.J. Clin Path 1957; 28-56.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001165 (GOT)  Cont. R1a, R2:1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL  
Ref: 1001175 (GPT)  Cont. R1b, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

**Determinación cuantitativa de transaminasas GOT y GPT IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Las transaminasas catalizan la transferencia del grupo amino del aspartato (GOT) o de la alanina (GPT) al  $\alpha$ -cetoglutarato. El cetoácido formado, oxalacético o pirúvico respectivamente, en presencia de 2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNFH) da la hidrazona correspondiente con una coloración medible en medio alcalino<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las transaminasas GOT y GPT son enzimas intracelulares que se encuentra en niveles altos en el músculo del corazón, las células del hígado, las células del músculo esquelético y en menores cantidades en otros tejidos.

Aunque un nivel elevado de GOT y la GPT en el suero no es específico de enfermedad hepática se emplea principalmente para su diagnóstico y seguimiento. El empleo de la GOT en conjunción con la GPT ayuda en el diagnóstico de infartos de miocardio, ya que el valor de la GPT se mantiene dentro de los límites normales y aumenta los niveles de GOT<sup>1,2,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

Ref: 1001165 **GOT**

|               |                         |        |            |
|---------------|-------------------------|--------|------------|
| <b>R1a</b>    | DL-Aspartato            | pH 7,4 | 100 mmol/L |
| Substrato GOT | $\alpha$ -Cetoglutarato |        | 2 mmol/L   |

Ref: 1001175 **GPT**

|               |                         |        |            |
|---------------|-------------------------|--------|------------|
| <b>R1b</b>    | DL-Alanina              | pH 7,4 | 200 mmol/L |
| Substrato GPT | $\alpha$ -Cetoglutarato |        | 2 mmol/L   |

|           |                                  |          |
|-----------|----------------------------------|----------|
| <b>R2</b> | 2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNFH) | 1 mmol/L |
| Revelador |                                  |          |

|                               |                                       |            |
|-------------------------------|---------------------------------------|------------|
| <b>GOT / GPT -R&amp;F CAL</b> | Calibrador primario de ácido pirúvico | 1,2 mmol/L |
|-------------------------------|---------------------------------------|------------|

**Reactivo adicional:** Hidróxido sódico (NaOH) 0,4 N

**PREPARACIÓN**

Todos los reactivos están listo para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Baño termostatable a 37°C ( $\pm$  1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero<sup>1,2</sup>. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: . . . . .505 nm  
 Cubeta: . . . . .1 cm paso de luz  
 Temperatura . . . . .15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en un tubos de ensayo:

|                          | GOT    | GPT    |
|--------------------------|--------|--------|
| <b>R1a</b> Substrato GOT | 0,5 mL | --     |
| <b>R1b</b> Substrato GPT | --     | 0,5 mL |

- Incubar 5 min. a 37°C, añadir

| Muestra | 100 $\mu$ L | 100 $\mu$ L |
|---------|-------------|-------------|
|         |             |             |

- Mezclar e incubar a 37°C, durante: 30 min. 30 min.

| <b>R2</b> Revelador | 0,5 mL | 0,5 mL |
|---------------------|--------|--------|
|                     |        |        |

- Mezclar y dejar 20 min. a temperatura ambiente y añadir:

| NaOH 0,4 N | 5,0 mL | 5,0 mL |
|------------|--------|--------|
|            |        |        |

- Mezclar y dejar reposar 5 min. a temperatura ambiente
- Leer la absorbancia (A) frente a agua destilada. El color es estable como mínimo 1 hora.

**CÁLCULOS**

Los valores de la actividad GOT y GPT se hallan interpolando la absorbancia hallada para el problema con la curva de calibración.

**Curva de calibración**

- En tubos de ensayo Pipetear (mL):

| Tubo          | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Agua          | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Substrato GOT | 1,0 | 0,9 | 0,8 | 0,7 | 0,6 | 0,5 |
| Calibrador    | 0,0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| DNFH          | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |

Mezclar bien y dejar 20 min. a temperatura ambiente.

| NaOH 0,4 N | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
|------------|------|------|------|------|------|------|
|            |      |      |      |      |      |      |

Mezclar bien y dejar 5 min. a temperatura ambiente.

- Leer la absorbancia (A) de todos los tubos, frente a agua destilada.
- Representar gráficamente los resultados, colocando las absorbancias en ordenadas y las unidades en abscisas, de acuerdo con la siguiente relación:

|     |       |   |    |    |    |     |     |
|-----|-------|---|----|----|----|-----|-----|
| GOT | WU/mL | 0 | 22 | 55 | 95 | 150 | 215 |
|     | U/L   | 0 | 11 | 27 | 46 | 72  | 104 |
| GPT | WU/mL | 0 | 25 | 50 | 83 | 126 | --  |
|     | U/L   | 0 | 12 | 24 | 40 | 62  | --  |

**Unidades**

- Una unidad Wróblewski (UW) de GOT o GPT se define como la cantidad de enzima que forma  $4,82 \times 10^{-4}$   $\mu$ mol de Glutamato/min (25°C).
- Para convertir las UW a U/l multiplicar por 0,482.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

**GOT:** 8-40 UW / ml (3-18 U/L) **GPT:** 5-30 UW / ml (2-16 U/L)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

**Rango de medida:** Desde el límite de detección hasta el límite de linealidad 180 UW/ml para la GOT y 126 UW/ml para la GPT

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con CiNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

La hemólisis interfiere con la determinación<sup>1,2</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de GOT y GPT<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

**SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFÍA**

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.
- Reitman S, Frankel S.J. Clin Path 1957; 28-56.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1001165 (GOT)  Cont. R1a, R2:1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL  
 Ref: 1001175 (GPT)  Cont. R1b, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

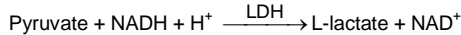


**Quantitative determination of lactate dehydrogenase (LDH) IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Lactate dehydrogenase (LDH) catalyses the reduction of pyruvate by NADH, according the following reaction:


 The rate of decrease in concentration of NADPH, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of LDH present in the sample<sup>1</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Lactate dehydrogenase (LDH) is an enzyme with wide tissue distribution in the body.

The higher concentrations of LDH are found in liver, heart, kidney, skeletal muscle and erythrocytes.

 Increased levels of the enzyme are found in serum in liver disease, myocardial infarction, renal disease, muscular dystrophy and anemia<sup>1,4,5</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|                  |          |             |
|------------------|----------|-------------|
| <b>Reagent 1</b> | Imidazol | 65 mmol/L   |
| Buffer           | Pyruvate | 0,6 mmol/L  |
| <b>Reagent 2</b> | NADH     | 0,18 mmol/L |
| Substrate        |          |             |

**PREPARATION**

Working reagent (WR) :

Mix: 4 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate

Stability: 15 days at 2-8°C or 5 days at 15-25°C.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm <1,00.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C o 37°C (± 0,1°C)
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

 Serum<sup>1</sup>. Separated from cells as rapidly as possible. Do not use oxalates as anticoagulants since they inhibit the enzyme.

Do not use haemolysed samples. Stability: 2 days at 2-8°C.

**PROCEDURE**

- Assay conditions:  
 Wavelength: ..... 340 nm  
 Cuvette: ..... 1 cm light path  
 Constant temperature: ..... 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

|             | 25° - 30°C | 37°C |
|-------------|------------|------|
| WR (mL)     | 3,0        | 3,0  |
| Sample (µL) | 100        | 50   |

- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

**CALCULATIONS**

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 4925 = \text{U/L LDH}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 9690 = \text{U/L LDH}$$

**Units:** One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

**Temperature conversion factors**

To correct results to other temperatures multiply by:

| Assay temperature | Conversion factor to |      |      |
|-------------------|----------------------|------|------|
|                   | 25°C                 | 30°C | 37°C |
| 25°C              | 1,00                 | 1,33 | 1,92 |
| 30°C              | 0,75                 | 1,00 | 1,43 |
| 37°C              | 0,52                 | 0,70 | 1,00 |

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES<sup>1</sup>**

|             |             |             |
|-------------|-------------|-------------|
| 25°C        | 30°C        | 37°C        |
| 120-240 U/L | 160-320 U/L | 230-460 U/L |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**
**Measuring range:** From detection limit of 3,42 U/L to linearity limit of 1600 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

**Precision:**

|            | Intra-assay (n=20) |       | Inter-assay (n=20) |      |
|------------|--------------------|-------|--------------------|------|
| Mean (U/L) | 400                | 785   | 392                | 773  |
| SD         | 3,15               | 10,97 | 6,23               | 9,93 |
| CV (%)     | 0,79               | 1,40  | 1,59               | 1,28 |

**Sensitivity:** 1 U/L = 0,00009 ΔA/min.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,98382.

Regression equation: y= 0,8988x + 2,583.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

**INTERFERENCES**

Haemolysis interferes with the assay.

 Some anticoagulants such as oxalates interfere with the reaction<sup>1</sup>.

 A list of drugs and other interfering substances with LDH determination has been reported by Young et. al<sup>2,3</sup>.

**NOTES**
**SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**
**BIBLIOGRAPHY**

- Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

|            |       |                 |
|------------|-------|-----------------|
| Ref: 41220 |       | R 1: 1 x 60 mL  |
|            |       | R 2: 1 x 15mL   |
| Ref: 41222 | Cont. | R 1: 1 x 240 mL |
|            |       | R 2: 1 x 60 mL  |
| Ref: 41223 |       | R 1: 1 x 480 mL |
|            |       | R 2: 1 x 120 mL |



# Bilirubin Total and Direct

Jendrassik – Grof. Colorimetric

## Quantitative determination of bilirubin IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Bilirubin is converted to colored azobilirubin by diazotized sulfanilic acid and measured photometrically.

Of the two fractions presents in serum, bilirubin-glucuronide and free bilirubin loosely bound to albumin, only the former reacts directly in aqueous solution (bilirubin direct), while free bilirubin requires solubilization with caffeine to react (bilirubin indirect). In the determination of indirect bilirubin the direct is also determined, the results correspond to total bilirubin.

The intensity of the color formed is proportional to the bilirubin concentration in the sample<sup>1,2,3</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin.

It is transported from the spleen to the liver and excreted into bile.

Hyperbilirubinemia results from the increase of bilirubin concentrations in plasma. Causes of hyperbilirubinemia:

Total bilirubin: Increased hemolysis, genetic errors, neonatal jaundice, ineffective erythropoiesis, and drugs.

Direct bilirubin: Hepatic cholestasis, genetic errors, hepatocellular damage<sup>1,6,7</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|          |  |                         |
|----------|--|-------------------------|
| R 1      | Sulfanilic acid<br>Hydrochloric acid (HCl) | 30 mmol/L<br>400 mmol/L |
| R 2      | Sodium nitrite                             | 50 mmol/L               |
| R 3      | Caffeine                                   | 100 mmol/L              |
| Optional | BILIRUBIN CAL                              | Ref: 1002250            |

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Color development in R 2.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 540 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

Serum or plasma, free of hemolysis<sup>1</sup>.

Protect samples from direct light.

Stability: Bilirubin is stable at 2-8°C for 4 days and 2 months at -20°C.

### PROCEDURE

1. Assay conditions:  
Wavelength: ..... 540 nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature ..... 15-25°C
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette:

|                                      | B. Total | B. Direct | Blank |
|--------------------------------------|----------|-----------|-------|
| R 1 (µL)                             | 200      | 200       | 200   |
| R 2 (drop)                           | 1        | 1         | --    |
| NaCl 9 g/L (mL)                      | --       | 2.0       | 2.0   |
| R 3 (mL)                             | 2.0      | --        | --    |
| Sample / Calibrator (µL)<br>(Note 1) | 200      | 200       | 200   |

4. Mix and incubate for exactly 5 minutes at 15-25°C.
5. Read the absorbance (A).

### CALCULATIONS

– With Calibrator:

$$\frac{(A) \text{ Sample} - (A) \text{ Sample Blank}}{(A) \text{ Calibrator} - (A) \text{ Calibrator Blank}} \times \text{Conc. Calibrator} = \text{mg/dL bilirubin}$$

– With Factor:

$$((A) \text{ Sample} - (A) \text{ Sample Blank}) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirubin in the sample}$$

\*Factor:  $\frac{\text{Concentration of Calibrator}}{(A) \text{ Calibrator} - (A) \text{ Calibrator Blank}}$ ; Theoretical factor = 17.5

Conversion factor: mg/dL x 17.1 = µmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

|                  |                                       |
|------------------|---------------------------------------|
| Bilirubin Total  | Up to 1.10 mg/dL $\cong$ 18.81 µmol/L |
| Bilirubin Direct | Up to 0.25 mg/dL $\cong$ 4.27 µmol/L  |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From detection limit of 0,1 mg/L to linearity limit of 20 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

| Bilirubin D  | Intra-assay (n=20) |      | Inter-assay (n=20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
|              | Mean (mg/dL)       | SD   | CV (%)             |      |
| Mean (mg/dL) | 0,78               | 2,28 | 0,80               | 2,18 |
| SD           | 0,01               | 0,01 | 0,01               | 0,03 |
| CV (%)       | 1,28               | 0,65 | 1,63               | 1,53 |

| Bilirubin T  | Intraserie (n= 20) |      | Interserie (n= 20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
|              | Mean (mg/dL)       | SD   | CV (%)             |      |
| Mean (mg/dL) | 1,16               | 4,21 | 1,15               | 4,27 |
| SD           | 0,02               | 0,04 | 0,02               | 0,13 |
| CV (%)       | 2,03               | 1,06 | 1,91               | 3,10 |

**Sensitivity:** (T) 1 mg/dL = 0,079 A. (D) 1 mg/dL = 0,087 A.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

#### DIRECT BILIRUBIN

Correlation coefficient (r): 0.99.

Regression equation:  $y = 0,9923x + 0,0048$ .

#### TOTAL BILIRUBIN

Correlation coefficient (r): 0.99.

Regression equation:  $y = 0,9832x + 0,0224$ .

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Hemolysis causes decreased bilirubin values<sup>1,2,3</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with bilirubin has been reported by Young et al.<sup>4,5</sup>.

### NOTES

1. For bilirubin determination in newborns, pipette 50 µL of sample. Multiply the result by 4.
2. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

1. Kaplan A et al. *Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1238-1241, 436 and 650.
2. Malloy H T et al. *The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem* 1937; 112 (2): 481-491.
3. Jendrassik L et al. *Biochemische Zeitschrift Band 1938; 297:80-89.*
4. Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.*
5. Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.*
6. Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.*
7. Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.*

### PACKAGING

Ref: 1001041

Cont.

R 1: 1 x 60 mL

R 2: 1 x 10 mL

R 3: 1 x 150 mL



# Bilirrubina Total y Directa

Jendrassik – Grof. Colorimétrico

## Determinación cuantitativa de bilirrubina IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónico y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con cafeína para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina. Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia: Bilirrubina Total: Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas. Bilirrubina Directa: Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas<sup>1,6,7</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

|          |                      |             |
|----------|----------------------|-------------|
| R 1      | Ácido sulfanílico    | 30 mmol/L   |
|          | Ácido clorhídrico    | 400 mmol/L  |
| R 2      | Sodio nitrito        | 50 mmol/L   |
| R 3      | Cafeína              | 100 mmol/L  |
| Opcional | <b>BILIRUBIN CAL</b> | Ref:1002250 |

### PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R 2.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis<sup>1</sup>. Proteger de la luz. Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 540 nm
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura ..... 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

|   | B. Total | B. Directa | Blanco |
|---|----------|------------|--------|
| R 1 (µL)                                      | 200      | 200        | 200    |
| R 2 (gotas)                                   | 1        | 1          | --     |
| CiNa 9 g/L (mL)                               | --       | 2,0        | 2,0    |
| R 3 (mL)                                      | 2,0      | --         | --     |
| Muestra / Calibrador (µL) <sup>(Nota 1)</sup> | 200      | 200        | 200    |

- Mezclar e incubar exactamente **5 minutos** a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A).

### CÁLCULOS

- Con Calibrador:

$$\frac{(A)/Muestra - (A)/Blanco Muestra}{(A)/Calibrador - (A)/Blanco Calibrador} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de bilirrubina}$$

- Con Factor:

$$((A) Muestra - (A) Blanco Muestra) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirrubina en la muestra}$$

$$*\text{Factor} = \frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) Calibrador - (A) Blanco Calibrador}; \text{Factor teórico} = 17,5$$

Factor de conversión: mg/dL x 17,1 = µmol/L.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

|                     |                                 |
|---------------------|---------------------------------|
| Bilirrubina Total   | Hasta 1,1 mg/dL ≅ 18.81 µmol/L  |
| Bilirrubina Directa | Hasta 0,25 mg/dL ≅ 4.275 µmol/L |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,1 mg/dL hasta el límite de linealidad de 20 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CiNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

| Bilirrubina D | Intraserie (n= 20) |      | Interserie (n= 20) |      |
|---------------|--------------------|------|--------------------|------|
|               | Media (mg/dL)      | 0,78 | 2,28               | 0,80 |
| SD            | 0,01               | 0,01 | 0,01               | 0,03 |
| CV (%)        | 1,28               | 0,65 | 1,63               | 1,53 |

| Bilirrubina T | Intraserie (n= 20) |      | Interserie (n= 20) |      |
|---------------|--------------------|------|--------------------|------|
|               | Media (mg/dL)      | 1,16 | 4,21               | 1,15 |
| SD            | 0,02               | 0,04 | 0,02               | 0,13 |
| CV (%)        | 2,03               | 1,06 | 1,91               | 3,10 |

**Sensibilidad analítica:** (T) 1 mg/dL = 0,079 A. (D) 1 mg/dL = 0,087 A.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

#### BILIRUBINA DIRECTA

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9923x + 0,0048.

#### BILIRUBINA TOTAL

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9832x + 0,0224.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina<sup>1,3</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación de la bilirrubina<sup>4,5</sup>.

### NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 4.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A et al. *Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241, 436 and 650.*
- Malloy H T et al. *The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 112 (2): 481-491.*
- Jendrassik L et al. *Biochemische Zeitschrift Band 1938; 297:80-89.*
- Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.*
- Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.*
- Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.*
- Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.*

### PRESENTACIÓN

|              |       |                 |
|--------------|-------|-----------------|
| Ref: 1001041 | Cont. | R 1: 1 x 60 mL  |
|              |       | R 2: 1 x 10 mL  |
|              |       | R 3: 1 x 150 mL |

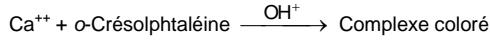


**Détermination quantitative de calcium IVD**

Conserver à 2-8°C

**PRINCIPE DE LA METHODE**

La mesure du calcium est fondée sur la formation d'un complexe coloré entre le calcium de l'échantillon et l'o-crésolphtaléine, en milieu alcalin :


 L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de calcium présente dans l'échantillon testé<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICATION CLINIQUE**

Le calcium est le minéral le plus abondant et le plus important du corps humain ; 99 % se trouve dans les os.

Une diminution des niveaux d'albumine cause une diminution du calcium dans le sérum. De faibles niveaux de calcium peuvent être attribués à de l'hypoparathyroïdie, pseudo-hypoparathyroïdie, déficit en vitamine D, malnutrition ou mauvaise absorption

 La majorité des causes d'hypercalcémie sont dues à des maladies oncologiques, intoxication par vitamine D, augmentation de la rétention rénale, ostéoporose, sarcoïdose, thyroïdose et hyperparathyroïdie<sup>1,6,7</sup>.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

**RÉACTIFS**

|                    |  |  |             |
|--------------------|--|--|-------------|
| <b>R 1</b>         | Éthanolamine                               |  | 500 mmol/L  |
| Tampon             |  |  |             |
| <b>R 2</b>         | o-Crésolphtaléine                          |  | 0,62 mmol/L |
| Chromogène         | 8-Hydroxyquinoléine                        |  | 69 mmol/L   |
| <b>CALCIUM CAL</b> | Étalon primaire aqueux de Calcium 10 mg/dL |  |             |

**PRÉCAUTIONS**

R2 : Corrosif (C) : R35 : Provoque de graves brûlures.

**PRÉPARATION**

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

**CONSERVATION ET STABILITE**

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

**Indices de détérioration des réactifs:**

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 570 nm  $\geq$  0,2.

**MATERIEL SUPPLEMENTAIRE**

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 570 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 1,2)

**ÉCHANTILLONS**

 - Sérum ou plasma<sup>1</sup>: Séparé le plus tôt possible des hématies. Ne pas utiliser de l'oxalate ou EDTA comme anticoagulants vu qu'ils interfèrent avec la détermination du calcium.

 - Urine<sup>1</sup>: Effectuer le prélèvement d'urine de 24 heures dans des récipients sans calcium. Avant le prélèvement, mettre 10 mL d'acide nitrique à 50 % (v/v) dans le conteneur. Consigner le volume.

Diluer l'urine 1/2 dans de l'eau distillée pour l'analyser. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 2 (facteur de dilution).

Stabilité de l'échantillon : Le calcium est stable 10 jours à 2-8°C.

**PROCEDURE**

- Conditions de test:  
Longueur d'ondes: ..... 570 nm (550-590)  
Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage  
Température ..... 37°C / 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette:

|                         | Blanc | Étalon | Échantillon |
|-------------------------|-------|--------|-------------|
| R 1 (mL)                | 1,0   | 1,0    | 1,0         |
| R 2 (mL)                | 1,0   | 1,0    | 1,0         |
| Étalon (Note 3, 4) (μL) | --    | 20     | --          |
| Échantillon (μL)        | --    | --     | 20          |

- Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C / 15-25°C
- Lire l'absorption (A) du calibrateur contre le Blanc du réactif. La couleur est stable au moins 40 minutes.

**CALCULS**

Sérum ou plasma

(A) Échantillon x 10 (Conc. Calibrateur) = mg/dL de calcium dans

(A) Calibrateur

l'échantillon

Urine 24 h

(A) Échantillon x 10 x vol. (dL) urine/24 h = mg/24 h de calcium dans

(A) Calibrateur

l'échantillon

Facteur de conversion : mg/dL x 0,25 = mmol/L.

**CONTROLE DE QUALITE**

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibrateur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

**VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>**

Sérum ou plasma :

 Adultes 8,5-10,5 mg/dL  $\cong$  2,1-2,6 mmol/L

 Enfants 10-12 mg/dL  $\cong$  2,5-3 mmol/L

 Nouveau-nés 8-13 mg/dL  $\cong$  2-3,2 mmol/L

Urine :

 Adultes 50-300 mg/24 h  $\cong$  1,25-7,5 mmol/24 h

 Enfants 80-160 mg/24 h  $\cong$  2-4 mmol/24 h

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

**CARACTERISTIQUES DE LA METHODE**

Plage de mesure: Depuis la limite de détection de 0,071 mg/dL, jusqu'à la limite de linéarité de 35 mg/dL

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

**Précision:**

|                 | Intra-série (n= 20) |       | Inter-série (n= 20) |       |
|-----------------|---------------------|-------|---------------------|-------|
| Moyenne (mg/dL) | 9,14                | 16,02 | 9,34                | 16,27 |
| SD              | 0,07                | 0,11  | 0,20                | 0,37  |
| CV (%)          | 0,74                | 0,68  | 2,16                | 2,27  |

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,044 A.

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,981.

 Equation de la Courbe de régression:  $y=0,8234x + 1,5484$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé

**INTERFÉRENCES**

 Les triglycérides  $\leq$  1,25 g/L, n'interfèrent pas<sup>1</sup>. Il a été rapporté que certaines drogues et autres substances interfèrent avec la détermination du calcium<sup>4,5</sup>.

**REMARQUES**

- CALCIUM CAL : En raison de la nature du produit, il est conseillé de le traiter avec beaucoup de soin vu qu'il peut facilement contaminer.
- Il est recommandé d'utiliser du matériel en plastique à usage unique. Si l'on utilise du matériel en verre, il faudra le laver avec de l'acide nitrique dilué dans de l'eau (1/1), rincer plusieurs fois à l'eau distillée et sécher avant emploi.
- La majorité des détergents destinés à un usage en laboratoire contiennent des agents chélateurs. Des traces de ces derniers, consécutifs à un mauvais rinçage du matériel, invalident la détermination.
- La calibration avec l'Étalon aqueux peut donner lieu à des erreurs systématiques dans les méthodes automatiques. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser des calibrateurs sériques.
- Utiliser des embouts de pipette jetables propres pour la dispensation.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

**BIBLIOGRAPHIE**

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**PRÉSENTATION**

 Réf:1001061 Cont. R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Réf:1001062 R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

**Réactif précipitant de HDL cholestérol IVD**

Conserver à 2-8°C

**PRINCIPE DE LA METHODE**

Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et faible densité (LDL) du sérum ou plasma se précipitent avec le phosphotungstate en présence d'ions magnésium. Après leur centrifugation, le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité (HDL). La fraction de cholestérol HDL est déterminée employant le réactif de l'enzyme cholestérol total<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICATION CLINIQUE**

Le cholestérol transporté par les lipoprotéines à haute densité (HDL) est souvent appelé « bon cholestérol », vu que des niveaux élevés sont liés à un moindre risque cardiovasculaire.

Un niveau bas de cholestérol HDL est considéré comme l'un des principaux facteurs de risque cardiovasculaire<sup>1,6,7</sup>.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

**RÉACTIFS**

|                     |                           |                              |
|---------------------|---------------------------|------------------------------|
| <b>R</b>            | Acide de phosphotungstate | 14 mmol/L                    |
| Réactif précipitant | Chlorure de magnésium     | 2 mmol/L                     |
| <b>Optionnel</b>    | Cholestérol               | Réf. 1001092<br>Réf. 1001093 |

**PRÉCAUTIONS**

R2 : Corrosif (C) : R35 : Provoque de graves brûlures.

**PRÉPARATION**

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi

**CONSERVATION ET STABILITE**

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

**Indices de détérioration des réactifs:**

- Présence de particules et turbidité.

**MATERIEL SUPPLEMENTAIRE**

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 505 nm. (500-550)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

**ÉCHANTILLONS**

Sérum ou plasma<sup>1</sup>.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés. Séparer le sérum des hématies le plus tôt possible.

Stabilité de l'échantillon : 7 jours à 2-8°C.

**PROCEDURE**
**Précipitation** <sup>Remarque 1</sup>

1. Doser dans des tubes à centrifuger :

|                  |     |
|------------------|-----|
| R (µL)           | 100 |
| Échantillon (mL) | 1,0 |

2. Mélanger et laisser reposer 10 minutes à température ambiante.
3. Centrifuger 20 min à 4 000 r.p.m. ou 2 min à 12 000 r.p.m.
4. Recueillir le surnageant et transformer selon s'indique sur la détermination de cholestérol total.

**CALCULS**

Procéder selon les instructions détaillées dans les instructions de travail de Cholestérol total.

**LDL-cholestérol calculé (Friedewald)**

LDLc = Cholestérol total – HDLc - (TG/5)

**CONTROLE DE QUALITE**

Procéder selon ce qui est indiqué dans les instructions de travail du réactif de Cholestérol.

**VALEURS DE REFERENCE<sup>3</sup>**

HDL-cholestérol :

|                  |             |             |
|------------------|-------------|-------------|
|                  | Hommes      | Femmes      |
| Risque inférieur | > 55 mg/dL  | > 65 mg/dL  |
| Risque normal    | 35-55 mg/dL | 45-65 mg/dL |
| Risque élevé     | < 35 mg/dL  | < 45 mg/dL  |

LDL-cholestérol :

|                               |   |           |
|-------------------------------|---|-----------|
| Valeurs suspectes à partir de | : | 150 mg/dL |
| Valeurs élevées à partir de   | : | 190 mg/dL |

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

**CARACTERISTIQUES DE LA METHODE**

**Plage de mesure:** Depuis la limite de détection de 1,57 mg/dL, jusqu'à la limite de linéarité de 275 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

**Précision:**

|                 | Intra-série (n=20) |      | Inter-série (n=20) |      |
|-----------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Moyenne (mg/dL) | 75,8               | 33,9 | 95,2               | 182  |
| SD              | 0,89               | 0,85 | 2,59               | 3,04 |
| CV (%)          | 1,18               | 2,51 | 2,72               | 1,68 |

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,0015 A.

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99

Equation de la Courbe de régression:  $y=0,9944x-1,2346$

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

**INTERFÉRENCES**

Il n'a pas été observé d'interférences avec des triglycérides jusqu'à 4 g/L<sup>1</sup>.

Il a été rapporté que plusieurs drogues et autres substances interfèrent avec la détermination du Cholestérol HDL<sup>4,5</sup>.

**REMARQUES**

1. La procédure de précipitation peut également se réaliser en utilisant la moitié du volume du réactif et échantillon.
2. La calibration avec l'Étalon aqueux peut donner lieu à des erreurs systématiques dans les méthodes automatiques. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser des calibrateurs sériques.
3. Le calibrateur ne doit pas se précipiter. Il faut uniquement l'utiliser dans la partie de l'essai visant à la détermination de HDL cholestérol.
4. **SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Naito H K. High-density lipoprotein (HDL) cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1207-1213 and 437.
2. Grove T H. Effect of reagent pH on Determination of HDL Cholesterol by precipitation with Sodium Phosphotungstate-magnesium Clin Chem 1979; 25:560.
3. US National Cholesterol Education Program of the National Institutes of Health.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
6. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**PRÉSENTATION**

Réf: 1001095  R : 4 x 5 mL

### Détermination quantitative d'urée

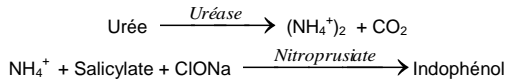
#### IVD

Conserver à 2-8°C

#### PRINCIPE DE LA METHODE

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH<sub>3</sub>) et en anhydride carbonique (CO<sub>2</sub>).

Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorithe (ClONa), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert :



L'intensité de couleur formé est proportionnel à la concentration d'urée en le test à diminution de la concentration de NAD<sup>+</sup> dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction.

Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales<sup>1,4,5</sup>.

La diagnostique clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

#### REACTIFS

|                |  |            |
|----------------|--|------------|
| R 1<br>Tampon  | Tampon phosphates pH 6,7                     | 50 mmol/L  |
|                | EDTA   | 2 mmol/L   |
| R 2<br>ClONa   | Salicylate de sodium                         | 400 mmol/L |
|                | Nitroprussiate de sodium                     | 10 mmol/L  |
| R 3<br>Enzymes | Hypochlorite de sodium (ClONa)               | 140 mmol/L |
|                | Hydroxyde de sodium                          | 150 mmol/L |
| UREA CAL       | Urée   | 30000 U/L  |
|                | Patron primaire de détection d'urée 50 mg/dL |            |

#### PRECAUTIONS

R2: Corrosif (C); R35: provoque des brûlures graves.  
S26 En cas de contact avec les yeux, laver à grande eau claire immédiatement et se rendre chez un médecin. S37/39 Utiliser des gants adaptés et des protections pour les yeux/les mains.  
S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

#### PREPARATION

- Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.  
Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).  
- Le R2 ClONa prêt à l'emploi.

#### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

#### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 580 nm ≥ 0,32.

#### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque<sup>2</sup>).

#### ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé<sup>1</sup>: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ni de fluorure comme anticoagulants.

- Urine<sup>1</sup>: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée; mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution). Eviter le développement de bactéries, en réglant le pH < 4.

L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

#### PROCEDURE

- Conditions de test:  
Longueur d'ondes: ..... 580 nm  
Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage  
Température: ..... 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

| RT (mL)                                 | Blanc | Étalon | Echantillon |
|---|-------|--------|-------------|
| 1,0                                     | 1,0   | 1,0    | 1,0         |
| Étalon <sup>(Remarque 1,3,4)</sup> (µL) | --    | 10     | --          |
| Echantillon (µL)                        | --    | --     | 10          |

- Mélanger et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

- Pipeter:

|          | Blanc | Étalon | Echantillon |
|----------|-------|--------|-------------|
| R 2 (mL) | 1,0   | 1,0    | 1,0         |

- Mélanger et incuber 5 min. à 37°C ou 10 min. À température ambiante.
- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.

#### CALCULS

$$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc}}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} \times 50 (\text{Étalon conc.}) = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée<sup>1</sup>.

**Facteur de conversion:** mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

#### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

#### VALEURS DE REFERENCE

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 gr/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

#### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

**Gamme de mesures:** Depuis la limite de détection de 0,3 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 200 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

#### Précision:

|                 | Intra-série (n=20) |      | Inter-série (n=20) |      |
|-----------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Moyenne (mg/dL) | 40,0               | 139  | 40,0               | 142  |
| SD              | 1,27               | 3,50 | 1,86               | 3,75 |
| CV (%)          | 3,17               | 2,50 | 4,64               | 2,63 |

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,00505 A.

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,9941.

Equation de la Courbe de régression: y=0,9972x + 0,011.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

#### INTERFERENCES

Comme anticoagulants, il est conseillé d'utiliser de l'héparine. Ne jamais utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure<sup>1</sup>.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée<sup>4,5</sup>

#### REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, manipuler avec précaution. Peut être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de sels<sup>1</sup>.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

#### BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Tabacco A et al. Clin Chem 1979; 25: 336-337.
- Fawcett J K et al. J Clin Path 1960; 13: 156-169.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

#### PRESENTATION

|              |       |   |
|--------------|-------|---|
| Ref: 1001331 | Cont. | R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL, CAL: 1 x 5 mL |
| Ref: 1001329 |       | R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL    |

# Bilirubin Total and Direct

DMSO. Colorimetric

## Quantitative determination of bilirubin IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Bilirubin is converted to colored azobilirubin by diazotized sulfanilic acid and measured photometrically. Of the two fractions presents in serum, bilirubin-glucuronide and free bilirubin loosely bound to albumin, only the former reacts directly in aqueous solution (bilirubin direct), while free bilirubin requires solubilization with dimethylsulfoxide (DMSO) to react (bilirubin indirect). In the determination of indirect bilirubin the direct is also determined, the results correspond to total bilirubin. The intensity of the color formed is proportional to the bilirubin concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin. It is transported from the spleen to the liver and excreted into bile. Hyperbilirubinemia results from the increase of bilirubin concentrations in plasma. Causes of hyperbilirubinemia: Total bilirubin (T): Increase hemolysis, genetic errors, neonatal jaundice, ineffective erythropoiesis, and drugs. Direct bilirubin (D): Hepatic cholestasis, genetic errors, hepatocellular damage<sup>1,5,6</sup>. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|                 |  |                                   |
|-----------------|--|-----------------------------------|
| <b>R 1 (D)</b>  | Sulfanilic acid<br>Hydrochloric acid (HCl)                             | 30 mmol/L<br>150 mmol/L           |
| <b>R 2 (T)</b>  | Sulfanilic acid<br>Hydrochloric acid (HCl)<br>Dimethylsulfoxide (DMSO) | 30 mmol/L<br>50 mmol/L<br>7 mol/L |
| <b>R 3</b>      | Sodium nitrite   | 29 mmol/L                         |
| <b>Optional</b> | <b>BILIRUBIN CAL</b>   | Ref: 1002250                      |

### PRECAUTIONS

R1/R2/RT: Corrosive (C);R35:Causes severe burns.  
S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Color development in R 2.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 555 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

Serum or plasma, free of haemolysis (separated from red blood cells as soon as possible). Protect samples from direct light. Sample Stability (without red blood cells): 2-8°C for 4 days and 2 months at -20°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 555 nm (530-580)  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature ..... 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

|                                   | Blank | Total B. | Blank | Direct B. |
|-----------------------------------|-------|----------|-------|-----------|
| R 1 (D) (mL)                      | --    | --       | 1.5   | 1.5       |
| R 2 (T) (mL)                      | 1.5   | 1.5      | --    | --        |
| R 3 (µL)                          | --    | 50       | --    | 50        |
| Sample (NOTE 1) / Calibrator (µL) | 100   | 100      | 100   | 100       |

- Mix and incubate exactly for **5 minutes** at 15-25°C.
- Read the absorbance (A).

### CALCULATIONS

#### With Calibrator:

$$\frac{(A) \text{Sample} - (A) \text{Sample Blank}}{(A) \text{Calibrator} - (A) \text{Calibrator Blank}} \times \text{Conc. Calibrator} = \text{mg/dL bilirubin}$$

#### With Factor:

$$((A) \text{Sample} - (A) \text{Sample Blank}) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirubin in the sample}$$

$$\text{*Factor: } \frac{\text{Concentration of Calibrator}}{(A) \text{Calibrator} - (A) \text{Calibrator Blank}}$$

**Theoretical factor:** Bilirubin (T) = 19,1 ; Bilirubin (D) = 14

**Conversion factor:** mg/dL x 17.1 = µmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Bilirubin Total Up to 1.10 mg/dL  $\cong$  18.81 µmol/L  
Bilirubin Direct Up to 0.25 mg/dL  $\cong$  4.27 µmol/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From detection limit of (T) 0,099 mg/dL (D) 0.04 mg/dL to linearity limit of 18 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

| Bilirubin T  | Intra-assay (n=20) |      | Inter-assay (n=20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Mean (mg/dL) | 1.12               | 5.36 | 1.01               | 5.28 |
| SD           | 0.02               | 0.12 | 0.03               | 0.12 |
| CV (%)       | 2.33               | 2.27 | 2.70               | 2.32 |

| Bilirubin D  | Intra-assay (n=20) |      | Inter-assay (n=20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Mean (mg/dL) | 0.64               | 2.28 | 0.68               | 2.53 |
| SD           | 0.01               | 0.02 | 0.02               | 0.05 |
| CV (%)       | 1.91               | 1.10 | 2.51               | 1.95 |

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 1 mg/dL = 0.015 A (T).

1 mg/dL = 0.073 A (D).

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents.

The results obtained using 50 samples for Bilirubin D were the following:

Correlation coefficient (r): 0.99

Regression equation:  $y=0.9933x + 0.0039$

The results obtained using 50 samples for Bilirubin T were the following:

Correlation coefficient (r): 0.996

Regression equation:  $y=0.0884x + 0.0208$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Hemolysis causes decreased bilirubin values<sup>1,2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with bilirubin determination has been reported by Young et. al<sup>3,4</sup>.

### NOTES

- For bilirubin determination in newborns, pipette 50 µL of sample. Multiply the result by 2.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001044

R 1 (D): 1 x 150 mL  
R 2 (T): 1 x 150 mL  
R 3: 1 x 10 mL

Cont.



# Bilirrubina Total y Directa

DMSO. Colorimétrico

## Determinación cuantitativa de bilirrubina IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónico y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina. Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia: Bilirrubina Total (T): Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas. Bilirrubina Directa (D): Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas<sup>1,5,6</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

|          |                         |              |
|----------|-------------------------|--------------|
| R 1 (D)  | Ácido sulfanílico       | 30 mmol/L    |
|          | Ácido clorhídrico (HCl) | 150 mmol/L   |
| R 2 (T)  | Ácido sulfanílico       | 30 mmol/L    |
|          | Ácido clorhídrico (HCl) | 50 mmol/L    |
|          | Dimetilsulfóxido (DMSO) | 7 mol/L      |
| R 3      | Sodio nitrito           | 29 mmol/L    |
| Opcional | <b>BILIRRUBIN CAL</b>   | Ref: 1002250 |

### PRECAUCIONES

R1/R2/RT: Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves. S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

### PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R 2.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 555 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis (separado lo antes posible de los hematíes). Proteger de la luz.

Estabilidad de la muestra separada ya de los hematíes: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: . . . . . 555 nm (530-580)  
Cubeta: . . . . . 1 cm paso de luz  
Temperatura . . . . . 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

|  | Blanco | B. Total | Blanco | B. Directa |
|--|--------|----------|--------|------------|
| R 1 (D) (mL)                                 | --     | --       | 1,5    | 1,5        |
| R 2 (T) (mL)                                 | 1,5    | 1,5      | --     | --         |
| R 3 (µL)                                     | --     | 50       | --     | 50         |
| Muestra <sup>(Nota 1)</sup> /Calibrador (µL) | 100    | 100      | 100    | 100        |

- Mezclar e incubar exactamente **5 minutos** a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A).

### CÁLCULOS

#### Con Calibrador:

$$\frac{(A) \text{Muestra} - (A) \text{Blanco Muestra}}{(A) \text{Calibrador} - (A) \text{Blanco Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de bilirrubina}$$

#### Con Factor:

$$((A) \text{Muestra} - (A) \text{Blanco Muestra}) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirrubina en la muestra}$$

$$*\text{Factor: } \frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) \text{Calibrador} - (A) \text{Blanco Calibrador}}$$

**Factor teórico:** Bilirrubina (T) = 19,1 ; Bilirrubina (D) = 14

**Factor de conversión:** mg/dL x 17,1 = µmol/L.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

Bilirrubina Total Hasta 1,10 mg/dL  $\cong$  18,81 µmol/L  
Bilirrubina Directa Hasta 0,25 mg/dL  $\cong$  4,27 µmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de (T) 0,099 mg/dL (D) 0,04 mg/dL hasta el límite de linealidad de 18 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

#### Precisión:

| Bilirrubina T | Intraserie (n= 20) | Interserie (n= 20) |
|---------------|--------------------|--------------------|
| Media (mg/dL) | 1,12               | 5,36               |
| SD            | 0,02               | 0,12               |
| CV (%)        | 2,33               | 2,27               |

| Bilirrubina D | Intraserie (n= 20) | Interserie (n= 20) |
|---------------|--------------------|--------------------|
| Media (mg/dL) | 0,64               | 2,28               |
| SD            | 0,01               | 0,02               |
| CV (%)        | 1,91               | 1,10               |

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,015 A (T).  
1 mg/dL = 0,073 A (D).

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina D fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99

Ecuación de la recta de regresión:  $y=0,9933x + 0,0039$

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina T fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,996

Ecuación de la recta de regresión:  $y=0,0884x + 0,0208$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina<sup>1,2</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación de bilirrubina<sup>3,4</sup>.

### NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

### BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: 1001044

Cont.

R 1 (D): 1 x 150 mL  
R 2 (T): 1 x 150 mL  
R 3: 1 x 10 mL



# Magnesium Xylidyl

Xylidyl Blue. Colorimetric

## Quantitative determination of magnesium IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Magnesium forms a coloured complex when reacts with Magon sulfonate in alkaline solution.

The intensity of the color formed is proportional to the magnesium concentration in the sample<sup>1</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Magnesium is the second more abundant intracellular cation of the human body after potassium, being essential in great number of enzymatic and metabolic processes.

Is a cofactor of all the enzymatic reactions that involve the ATP and comprises of the membrane that maintains the electrical excitability of the muscular and nervous cells.

A low magnesium level is found in malabsorption syndrome, diuretic or aminoglycoside therapy; hyperparathyroidism or diabetic acidosis.

Elevated concentration of magnesium is found in uremia, chronic renal failure, glomerulonephritis, Addisons's disease or intensive anti acid therapy<sup>1,4,5</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|                      |  |             |
|----------------------|--|-------------|
| <b>R</b>             | Xylidyl Blue                               | 0,1 mmol/L  |
|                      | Thioglycolic acid                          | 0,7 mmol/L  |
|                      | DMSO                                       | 3000 mmol/L |
| <b>MAGNESIUM CAL</b> | Magnesium aqueous primary standard 2 mg/dL |             |

### PRECAUTIONS

Corrosive (C): R35: Causes severe burns.

S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

### PREPARATION

The reagent and standard are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles, color change and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 546  $\geq$  1,8.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 546 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment <sup>(Note 2)</sup>.

### SAMPLES

- Serum, heparinised plasma<sup>1</sup>:  
Free of hemolysis and separated from cells as rapidly as possible.  
Do not use oxalates or EDTA as anticoagulant.  
Stability: 7 days at 2-8°C.
- Urine<sup>1</sup>:  
Should be acidified to pH 1 with HCl.  
If urine is cloudy; warm the specimen to 60°C for 10 min. to dissolve precipitates.  
Dilute the sample 1/10 with distilled water and multiply the result by 10. Stability: 3 days at 2-8°C

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 546 nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature: ..... 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

|   | Blank | Standard | Sample |
|---|-------|----------|--------|
| R (mL)                                      | 1,0   | 1,0      | 1,0    |
| Standard <sup>(Note 1,3,4)</sup> ( $\mu$ L) | --    | 10       | --     |
| Sample ( $\mu$ L)                           | --    | --       | 10     |

- Mix and incubate for 5 min at room temperature or 3 min at 37°C.
- Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

### CALCULATIONS

$$\frac{(A)\text{Sample} - (A)\text{Blank}}{(A)\text{Standard} - (A)\text{Blank}} \times 2 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dL magnesium de in the sample}$$

### Conversion factors:

$$\text{mg/dL} \times 0,412 = \text{mmol/L}$$

$$0,5 \text{ mmol/L} = 1,0 \text{ mEq/L} = 1,22 \text{ mg/dL} = 12,2 \text{ mg/L}^1$$

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Serum or plasma:

$$1,6 - 2,5 \text{ mg/dL} \cong 0,66 - 1,03 \text{ mmol/L}$$

Urine:

$$24 - 244 \text{ mg/24 h} \cong 2 - 21 \text{ mEq/L/24 h}$$

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

*Measuring range:* From detection limit of 0,0052 mg/dL to linearity limit of 6 mg/dL. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

|              | Intra-assay (n=20) |      | Inter-assay (n=20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Mean (mg/dL) | 1,99               | 3,55 | 1,98               | 3,41 |
| SD           | 0,03               | 0,04 | 0,09               | 0,15 |
| CV (%)       | 1,68               | 1,14 | 4,55               | 4,42 |

*Sensitivity:* 1 mg/dL = 0,5536 (A).

*Accuracy:* Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained were the following:

Correlation coefficient (r): 0,92276

Regression equation:  $y=1,027x + 0,102$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Hemolysis and anticoagulants other than heparin<sup>1</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with magnesium determination has been reported by Young et. al<sup>2</sup>.

### NOTES

- MAGNESIUM CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- It is recommended use disposable material to avoid magnesium contamination. If glassware is used the material should be scrupulously clean with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> and then thoroughly rinsed with distilled water and dried before use.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. It is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**

### BIBLIOGRAPHY

- Farrell E C. **Magnesium.** Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001285 R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref: 1001286 Cont. R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

**Determinación cuantitativa de magnesio IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El magnesio forma un complejo coloreado al reaccionar con Magon sulfonado en solución alcalina.

 La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de magnesio en la muestra ensayada<sup>1</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

El magnesio, es el segundo catión intracelular más abundante en el organismo humano después del potasio, siendo esencial en gran número de procesos enzimáticos y metabólicos.

Es un cofactor en todas las reacciones enzimáticas que involucran al ATP y forma parte de la membrana que mantiene la excitabilidad eléctrica de las células musculares y nerviosas.

Principales causas de déficit de magnesio son mala absorción intestinal, administración de diuréticos o aminoglicósidos, hiperparatiroidismo o acidosis diabética.

 Niveles altos de magnesio se hallan en la uremia, fallo renal, glomerulonefritis, enfermedad de Addison o terapia intensiva con antiácidos<sup>1,4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|                      |  |             |
|----------------------|--|-------------|
| <b>R</b>             | Azul de Xilidil                            | 0,1 mmol/L  |
|                      | Ácido Tioglicólico                         | 0,7 mmol/L  |
|                      | DMSO                                       | 3000 mmol/L |
| <b>MAGNESIUM CAL</b> | Patrón primario acuoso de Magnesio 2 mg/dL |             |

**PRECAUCIONES**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.

S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

**PREPARACIÓN**

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas, cambio de color y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 546 nm  $\geq 1,8$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 546 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 2)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>:  
Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematíes.  
No usar oxalato o EDTA como anticoagulante.  
Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.
- Orina<sup>1</sup>:  
Ajustar a pH 1 con ClH. Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados.  
Diluir la muestra 1/10 con agua destilada y mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución).  
Estabilidad de la muestra: 3 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 546 nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

|                                    | Blanco | Patrón | Muestra |
|------------------------------------|--------|--------|---------|
| R (mL)                             | 1,0    | 1,0    | 1,0     |
| Patrón <sup>(Nota1,3,4)</sup> (µL) | --     | 10     | --      |
| Muestra (µL)                       | --     | --     | 10      |

- Mezclar e incubar 5 min a temperatura ambiente o 3 minutos a 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 2 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de magnesio en la muestra}$$

**Factores de conversión:**

$$\text{mg/dL} \times 0,412 = \text{mmol/L}$$

$$0,5 \text{ mmol/L} = 1,0 \text{ mEq/L} = 1,22 \text{ mg/dL} = 12,2 \text{ mg/L}^1.$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

$$1,6 - 2,5 \text{ mg/dL} \cong 0,66 - 1,03 \text{ mmol/L}$$

Orina:

$$24-244 \text{ mg/24 horas} \cong 2-21 \text{ mEq/L/24 horas}$$

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**
*Rango de medida:* Desde el límite de detección de 0,0052 mg/dL hasta el límite de linealidad de 6 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

|               | Intraserie (n= 20) |      | Interserie (n= 20) |      |
|---------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Media (mg/dL) | 1,99               | 3,55 | 1,98               | 3,41 |
| SD            | 0,03               | 0,04 | 0,09               | 0,15 |
| CV (%)        | 1,68               | 1,14 | 4,55               | 4,42 |

*Sensibilidad analítica:* 1 mg/dL = 0,5536 (A).

*Exactitud:* Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,92276

 Ecuación de la recta de regresión:  $y=1,027x + 0,102$ 

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina<sup>1</sup>.

 Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del magnesio<sup>2,3</sup>.

**NOTAS**

- MAGNESIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminación de magnesio. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. Se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1001285 R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

 Ref: 1001286 Cont. R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

**Quantitative determination of Potassium**
**IVD**

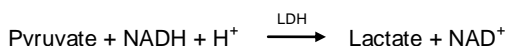
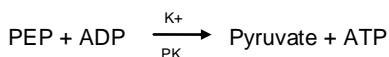
Store at 2-8°C

**INTENDED USE**

 For the quantitative *in vitro* determination of Potassium in serum and plasma.

**PRINCIPLE OF THE METHOD<sup>(1)</sup>**

Potassium is determined enzymatically via Potassium-dependant pyruvate kinase activity using phosphoenolpyruvate as substrate. The pyruvate formed reacts with NADH in the presence of LDH to form Lactate and NAD. The corresponding decrease in absorbance at 340 nm is proportional to the potassium concentration.


**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Potassium measurements are used to monitor electrolyte balance in the diagnosis and treatment of disease conditions characterised by low or high blood potassium levels.

**REAGENTS**

|  |                     |               |
|--|---------------------|---------------|
| <b>R 1</b><br>Buffer /<br>Enzyme-<br>Substrate | Tris buffer, pH 8.2 | 250 mmol/l    |
|  | Cryptand            | 12 mmol/l     |
|  | PEP                 | ≥ 3.3 mmol/l  |
|  | ADP                 | ≥ 3.15 mmol/l |
|  | l-oxoglutarate      | ≥ 1.2 mmol/l  |
|  | NADH                | ≥ 0.35 mmol/l |
|  | GLDH                | ≥ 11 mmol/l   |
|  | PK                  | ≥ 1.2 mmol/l  |
| <b>R2</b><br>Enzyme/<br>Diluent                | LDH                 | ≥ 65 U/ml     |

**PREPARATION**
**R1. Buffer/Enzyme-Substrate**

Dissolve the contents of 1 vial of Enzyme-Substrate R1b in a portion of Buffer R1a; then transfer the entire contents to Buffer R1a, rinsing vial R1b several times.

**R2. Enzyme /Diluent**

Dissolve 1 vial Enzyme R2b in a portion of Diluent R2a; then transfer the entire contents to Diluent R2a, rinsing vial R2b several times.

**STORAGE AND STABILITY**

R1 is stable for 7 days at 2-8°C.

R2 is stable for 2 weeks at 2-8°C.

Do not use reagents over the expiration date.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment <sup>(Note 1)</sup>.

**SAMPLES**

Serum, plasma treated with lithium heparinate.

**PROCEDURE**

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 340nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Constant temperature ..... 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

|    | Standard | Sample |
|----|----------|--------|
| R1 | 720 µL   | 720 µL |
| R2 | 290 µL   | 290 µL |

|          |       |       |
|----------|-------|-------|
| Standard | 20 µL | ----  |
| Sample   | ----  | 20 µL |

- Mix and read the absorbance after 120 s (A<sub>1</sub>) and 240 s (A<sub>2</sub>).
- Calculate:  $\Delta A = A_2 - A_1$ .

**CALCULATIONS**

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Sample}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrator}}} \times \text{Calibrator conc} = \text{mmol/L potassium in the sample}$$

**QUALITY CONTROL**

Control Sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagent and calibration for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES<sup>(2)</sup>**

3.5 – 5.1 mmol/l (13.7 – 19.9 mg/dl)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**Linearity:** The method is linear to potassium concentrations of 11.2 mmol/L

**Sensitivity:** The minimum detectable concentration of potassium with an acceptable level of precision was determined as 2.46 mmol/l.

**Precision:**

|        | Intra-assay (n=20) |      |      | Inter-assay (n=20) |      |      |
|--------|--------------------|------|------|--------------------|------|------|
|        | Mean (mmol/L)      | 3.37 | 4.37 | 6.40               | 3.17 | 4.05 |
| SD     | 0.09               | 0.14 | 0.12 | 0.09               | 0.07 | 0.09 |
| CV (%) | 2.67               | 3.23 | 1.95 | 2.95               | 1.67 | 1.53 |

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagent (x).

The results obtained using 77 samples spanning the range 2.51 to 9.99 were the following:

Correlation coefficient (r): 0.99.

Regression equation:  $y = 0.99x - 0.07$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

**INTERFERENCES**

The following analytes were tested up to the following levels and were found not to interfere:

|                         |            |
|-------------------------|------------|
| Intralipid <sup>®</sup> | 750 mg/dl  |
| Bilirubin               | 25 mg/dl   |
| Triglyceride            | 1000 mg/dl |
| Haemoglobin             | 250 mg/dl  |

**NOTES**

- In order to avoid contamination it is recommended to use disposable material.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

**BIBLIOGRAPHY**

- Berry, M. N. et al., (1989) *Clin. Chem.* **35**, 817.
- Tietz, N. W. (1986) *Textbook of Clinical Chemistry*, p. 1841. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

**PACKAGING**

Ref: 1001395

|       |
|-------|
| Cont. |
|-------|

 R1a, R1b (Lyo.): 3 x 20 mL,  
 R2a, R2b (Lyo.): 3 x 9 mL

**Determinación cuantitativa de Potasio**
**IVD**

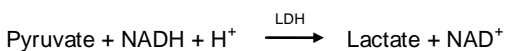
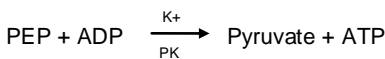
Conservar a 2-8°C

**USO PREVISTO**

 Para determinación cuantitativa *in vitro* de Potasio en suero y plasma.

**PRINCIPIO DEL METODO<sup>(1)</sup>**

El Potasio se determina enzimáticamente a través de la actividad de ADP, usando como sustrato fosfoenolpiruvato. El piruvato formado reacciona con el NADH en presencia de LDH para formar Lactato y NAD. El correspondiente descenso de absorbancia a 340 nm es proporcional a la concentración de potasio.


**SIGNIFICADO CLINICO**

Este test se utiliza para controlar el equilibrio electrolítico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades caracterizadas por niveles altos o bajos de potasio en sangre.

**REACTIVOS**

|   |                     |               |
|---|---------------------|---------------|
| <b>R 1</b><br>Tampón /<br>Enzima-<br>Sustrato | Tampón Tris, pH 8.2 | 250 mmol/l    |
|   | Cryptand            | 12 mmol/l     |
|   | PEP                 | ≥ 3.3 mmol/l  |
|   | ADP                 | ≥ 3.15 mmol/l |
|   | l-oxoglutarato      | ≥ 1.2 mmol/l  |
|   | NADH                | ≥ 0.35 mmol/l |
|   | GLDH                | ≥ 11 mmol/l   |
| <b>R2</b><br>Enzima/<br>Diluyente             | PK                  | ≥ 1.2 mmol/l  |
|   | LDH                 | ≥ 65 U/ml     |

**PREPARACION**
**R1. Tampón / Enzima-Sustrato**

Disolver el contenido de 1 vial de R1b (enzima-sustrato) con una porción de tampón R1a; transferir entonces el contenido total al tampón R1a, lavando el vial R1b varias veces.

**R2. Enzima/ Diluyente**

Disolver el contenido de 1 vial de R2b con una porción de diluyente R2a; transferir entonces el contenido total al diluyente R2a, lavando el vial R2b varias veces.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

R1 es estable 7 días a 2-8°C.

R2 es estable 2 semanas a 2-8°C.

**No usar los reactivos una vez pasada la fecha de caducidad.**

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio <sup>(Nota 1)</sup>.

**MUESTRAS**

Suero, plasma tratado con heparinato de litio.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 340 nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura constante ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en la cubeta:

|          | Estándar | Muestra |
|----------|----------|---------|
| R1       | 720 µL   | 720 µL  |
| R2       | 290 µL   | 290 µL  |
| Estándar | 20 µL    | ----    |
| Muestra  | ----     | 20 µL   |

- Mezclar y leer la absorbancia después de 120 s (A1) y 240 s (A2).
- Calcular:  $\Delta A = A_2 - A_1$ .

**CALCULOS**

$$\frac{(\Delta A) \text{ Muestra}}{(\Delta A) \text{ Calibrador}} \times \text{Conc Calibrador} = \text{mmol/L potasio en la muestra}$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 and 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>(2)</sup>**

3.5 – 5.1 mmol/l (13.7 – 19.9 mg/dl)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

**Linealidad:** El método es lineal hasta concentraciones de potasio de 11.2 mmol/L.

**Sensibilidad:** La mínima concentración de potasio detectable con un nivel de precisión aceptable se determinó a 2.46 mmol/l.

**Precisión:**

|        | Intraserie (n=20) |      |      | Interserie(n=20) |      |      |
|--------|-------------------|------|------|------------------|------|------|
|        | Media (mmol/L)    | 3.37 | 4.37 | 6.40             | 3.17 | 4.05 |
| SD     | 0.09              | 0.14 | 0.12 | 0.09             | 0.07 | 0.09 |
| CV (%) | 2.67              | 3.23 | 1.95 | 2.95             | 1.67 | 1.53 |

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 77 muestras entre 2.51 y 9.99 fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r): 0.99..

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0.99x - 0.07$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

Se encontró que las siguientes sustancias a los siguientes niveles no interfieren:

|               |            |
|---------------|------------|
| Intralipid®   | 750 mg/dl  |
| Bilirrubina   | 25 mg/dl   |
| Triglicéridos | 1000 mg/dl |
| Hemoglobina   | 250 mg/dl  |

**NOTAS**

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFIA**

- Berry, M. N. et al., (1989) *Clin. Chem.* **35**, 817.
- Tietz, N. W. (1986) *Textbook of Clinical Chemistry*, p. 1841. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

**PRESENTACION**

Ref: 1001395

Cont.

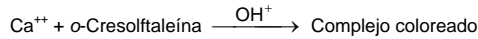
 R1a, R1b (Lio.): 3 x 20 mL,  
R2a, R2b (Lio.): 3 x 9 mL

## Determinación cuantitativa de calcio IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio de la muestra y la o-cresoltaleína, en medio alcalino:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción. La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcosidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo<sup>1,6,7</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

|                         |   |                          |
|-------------------------|---|--------------------------|
| <b>R 1</b><br>Tampón    | Etanolamina                               | 500 mmol/L               |
| <b>R 2</b><br>Cromógeno | o-Cresoltaleína<br>8-Hidroxiquinoleína    | 0,62 mmol/L<br>69 mmol/L |
| <b>CALCIUM CAL</b>      | Patrón primario acuoso de Calcio 10 mg/dL |                          |

### PREPARACIÓN

Los reactivos y el patrón están listos para su uso. Si se desea preparar monoreactivo, mezclar según la proporción: 50 vol. de R1 y 1 vol. de R2.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

La estabilidad del monoreactivo es de 5 días a 2-8°C.

### CALCIUM CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm  $\geq$  0,2.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1,2)</sup>.

### MUESTRAS

- Suero o plasma<sup>1</sup>: Separado lo antes posible de los hemáties. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfieren en la determinación del calcio.
- Orina<sup>1</sup>: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 570 nm (550-590)  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

|                              | Blanco | Patrón | Muestra |
|------------------------------|--------|--------|---------|
| R 1 (mL)                     | 2,0    | 2,0    | 2,0     |
| R 2 (gotas)                  | 1      | 1      | 1       |
| Patrón <sup>(Nota 3,4)</sup> | --     | 20     | --      |
| Muestra (µL)                 | --     | --     | 20      |

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

### CÁLCULOS

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{Muestra}}{(A) \text{Patrón}} \times 10 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{Muestra}}{(A) \text{Patrón}} \times 10 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de calcio en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,25= mmol/L.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

Suero o plasma:

|                |                |                        |
|----------------|----------------|------------------------|
| Adultos        | 8,5-10,5 mg/dL | $\cong$ 2,1-2,6 mmol/L |
| Niños          | 10-12 mg/dL    | $\cong$ 2,5-3 mmol/L   |
| Recién nacidos | 8-13 mg/dL     | $\cong$ 2-3,2 mmol/L   |

Orina:

|         |                |                            |
|---------|----------------|----------------------------|
| Adultos | 50-300 mg/24 h | $\cong$ 1,25-7,5 mmol/24 h |
| Niños   | 80-160 mg/24 h | $\cong$ 2-4 mmol/24 h      |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,17 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

### Precisión:

|               | Intraserie (n= 20) |      | Interserie (n= 20) |      |
|---------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Media (mg/dL) | 8,62               | 14,9 | 8,02               | 14,9 |
| SD            | 0,06               | 0,12 | 0,14               | 0,28 |
| CV (%)        | 0,68               | 0,81 | 1,76               | 1,89 |

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,043 A.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,97x + 0,26$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

Triglicéridos  $\leq$  1,25 g/L, no interfieren<sup>1</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio<sup>4,5</sup>.

### NOTAS

- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con ácido nítrico diluido con agua (1/1), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

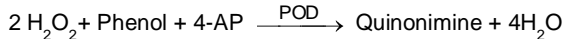
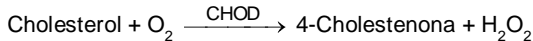
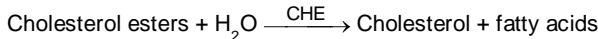
|             |       |            |
|-------------|-------|------------|
| Ref:1001060 | Cont. | 2 x 150 mL |
|-------------|-------|------------|

### Quantitative determination of cholesterol IVD

Store at 2-8°C

#### PRINCIPLE OF THE METHOD

The cholesterol present in the sample originates a coloured complex, according to the following reactions:



The intensity of the color formed is proportional to the cholesterol concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

#### CLINICAL SIGNIFICANCE

Cholesterol is a fat-like substance called a lipid that is found in all body cells. The liver makes all of the cholesterol the body needs to form cell membranes and to make certain hormones.

The determination of serum cholesterol is one of the important tools in the diagnosis an classification of lipemia.

High blood cholesterol is one of the major risk factors for heart disease<sup>5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

#### REAGENTS

|                        |                                      |            |
|------------------------|--------------------------------------|------------|
| <b>R</b>               | PIPES pH 6.9                         | 90 mmol/L  |
|                        | Phenol                               | 26 mmol/L  |
|                        | Cholesterol esterase (CHE)           | 1000 U/L   |
|                        | Cholesterol oxidase (CHOD)           | 300 U/L    |
|                        | Peroxidase (POD)                     | 650 U/L    |
| <b>CHOLESTEROL CAL</b> | 4 - Aminophenazone (4-AP)            | 0.4 mmol/L |
|                        | Cholesterol aqueous primary standard | 200 mg/dL  |

#### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

#### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0.26.

#### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

#### SAMPLES

Serum or plasma<sup>1,2</sup>: Stability of the sample 7 days at 2-8°C or freezing at -20°C will keep samples stable for 3 months.

#### PROCEDURE

1. Assay conditions:  
 Wavelength: ..... 505 nm (500-550)  
 Cuvette: ..... 1 cm light path  
 Temperature ..... 37°C /15-25°C
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette:

|                                     | Blank | Standard | Sample |
|-------------------------------------|-------|----------|--------|
| R (mL)                              | 1.0   | 1.0      | 1.0    |
| Standard <sup>(Note 1-2)</sup> (μL) | --    | 10       | --     |
| Sample (μL)                         | --    | --       | 10     |

4. Mix and incubate for 5 min at 37°C or 10 min at 15-25°C.

5. Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank. The colour is stable for at least 60 minutes.

#### CALCULATIONS

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 200 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dL cholesterol in the sample}$$

**Conversion factor:** mg/dL x 0.0258= mmol/L.

#### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagent and calibration for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

#### REFERENCE VALUES

Risk evaluation<sup>5,6</sup>:

|                     |            |
|---------------------|------------|
| Less than 200 mg/dL | Normal     |
| 200-239 mg/dL       | Borderline |
| 240 mg/dL and above | High       |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From detection limit 0.46 to linearity limit 600 mg/dL.

If the concentration is greater than linearity limit dilute 1/2 the sample with CIna 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

|              | Intra-assay (n=20) |      | Inter-assay (n=20) |      |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Mean (mg/dL) | 93.95              | 200  | 92.2               | 195  |
| SD           | 0.76               | 1.22 | 1.88               | 5.97 |
| CV (%)       | 0.80               | 0.61 | 2.04               | 3.05 |

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0.0017 (A).

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagent. The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

#### INTERFERENCES

No interferences were observed to hemoglobin up to 5 g/L and bilirubin up to 10 mg/dL<sup>1,2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with cholesterol determination has been reported by Young et al.<sup>3,4</sup>.

#### NOTES

1. CHOLESTEROL CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
2. LCF (Lipid Clearing Factor) is integrated in the reagent.
3. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
4. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
5. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

#### BIBLIOGRAPHY

1. Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
2. Meitattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N.W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

#### PACKAGING

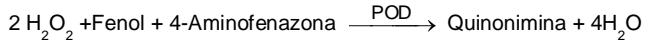
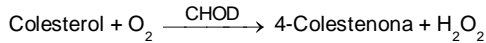
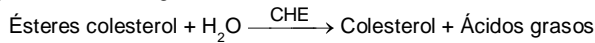
|            |       |                              |
|------------|-------|------------------------------|
| Ref: 41020 | Cont. | R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL   |
| Ref: 41022 |       | R: 2 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL |
| Ref: 41021 |       | R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL |
| Ref: 41019 |       | R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL |

### Determinación cuantitativa de colesterol IVD

Conservar a 2-8°C

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

#### SIGNIFICADO CLÍNICO

El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular<sup>5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

#### REACTIVOS

|                          |                           |   |
|--------------------------|---------------------------|---|
| <b>R</b>                 | PIPES pH 6.9              | 90 mmol/L   |
|                          | Fenol                     | 26 mmol/L   |
|                          | Colesterol esterasa (CHE) | 1000 U/L  |
|                          | Colesterol oxidasa (CHOD) | 300 U/L   |
|                          | Peroxidasa (POD)          | 650 U/L   |
| 4 - Aminofenazona (4-AF) |                           | 0,4 mmol/L  |
| <b>CHOLESTEROL CAL</b>   |                           | Patrón primario acuoso de Colesterol<br>200 mg/dL |

#### PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

#### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

#### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm  $\geq 0,26$ .

#### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

#### MUESTRAS

Suero o plasma<sup>1,2</sup>. Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y 3 meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).

#### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 505 nm (500-550).  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura ..... 37°C /15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

|                       | Blanco | Patrón | Muestra |
|-----------------------|--------|--------|---------|
| R (mL)                | 1,0    | 1,0    | 1,0     |
| Patrón (Nota1-2) (µL) | --     | 10     | --      |
| Muestra (µL)          | --     | --     | 10      |

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

#### CÁLCULOS

$$\frac{(A)\text{Muestra}}{(A)\text{Patrón}} \times 200 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de colesterol en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,0258= mmol/L.

#### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

#### VALORES DE REFERENCIA

Evaluación del riesgo<sup>5,6</sup>:

|                    |          |
|--------------------|----------|
| Menos de 200 mg/dL | Normal   |
| 200-239 mg/dL      | Moderado |
| 240 o más          | Alto     |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección 0,46 mg/dL hasta el límite de linealidad 600 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

#### Precisión:

|               | Intraserie (n=20) |      | Interserie (n=20) |      |
|---------------|-------------------|------|-------------------|------|
| Media (mg/dL) | 93,95             | 200  | 92,2              | 195  |
| SD (mg/dL)    | 0,76              | 1,22 | 1,88              | 5,97 |
| CV (%)        | 0,80              | 0,61 | 2,04              | 3,05 |

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0017 (A).

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL<sup>1,2</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Colesterol<sup>3,4</sup>.

#### NOTAS

- CHOLESTEROL CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

#### BIBLIOGRAFÍA

- Naito H.K. *Cholesterol*. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1194-11206 and 437.
- Meiattini F. et al. *The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System*. *Clin Chem* 1978; 24 (12): 2161-2165.
- Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed AACC 1995.

#### PRESENTACIÓN

|            |       |                              |
|------------|-------|------------------------------|
| Ref: 41020 | Cont. | R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL   |
| Ref: 41022 |       | R: 2 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL |
| Ref: 41021 |       | R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL |
| Ref: 41019 |       | R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL |

# Triglycerides

GPO-POD. Liquid

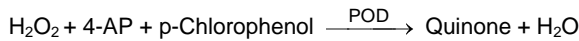
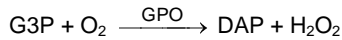
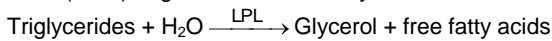
## Quantitative determination of triglycerides IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Sample triglycerides incubated with lipoproteinlipase (LPL), liberate glycerol and free fatty acids. Glycerol is converted to glycerol-3-phosphate (G3P) and adenosine-5-diphosphate (ADP) by glycerol kinase and ATP. Glycerol-3-phosphate (G3P) is then converted by glycerol phosphate dehydrogenase (GPO) to dihydroxyacetone phosphate (DAP) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

In the last reaction, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reacts with 4-aminophenazone (4-AP) and p-chlorophenol in presence of peroxidase (POD) to give a red colored dye:



The intensity of the color formed is proportional to the triglycerides concentration in the sample<sup>1,2,3</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Triglycerides are fats that provide energy for the cell.

Like cholesterol, they are delivered to the body's cells by lipoproteins in the blood. A diet with a lot of saturated fats or carbohydrates will raise the triglyceride levels. The increases in serum triglycerides are relatively non-specific. For example liver dysfunction resulting from hepatitis, extra hepatic biliary obstruction or cirrhosis, diabetes mellitus is associated with the increase<sup>3,6,7</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|          |                           |            |
|----------|---------------------------|------------|
| <b>R</b> | GOOD pH 6.3               | 50 mmol/L  |
|          | p-Chlorophenol            | 2 mmol/L   |
|          | Lipoprotein lipase (LPL)  | 150000 U/L |
|          | Glycerol kinase (GK)      | 500 U/L    |
|          | Glycerol-3-oxidasa (GPO)  | 3500 U/L   |
|          | Peroxidase (POD)          | 440 U/L    |
|          | 4 - Aminophenazone (4-AP) | 0.1 mmol/L |
| ATP      | 0.1 mmol/L                |            |

### PREPARATION

The reagent is ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm  $\geq$  0.40.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN640 Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

**BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.**

## SPIN640 APPLICATION

| TEST INFORMATION       |               | REAGENT VOLUME |                |
|------------------------|---------------|----------------|----------------|
| Nº                     | **            | Vol. R1        | 300            |
| Test                   | TRIG          | Vol. R2        |                |
| Full Name              | Triglycerides | Vol. R3        |                |
| Standard nº            | 1             | Vol. R4        |                |
| SAMPLE VOLUME          |               | RESULT SETUP   |                |
| Vol. Sample Stand.     | 3             | Decimal        | 1 Slope 1      |
| Vol. Sample Increas.   |               | Unit           | mg/dL Inter. 0 |
| Vol. Sample Dec        |               |                |                |
| REACTION PARAMETERS    |               |                |                |
| Reac. Type             | End Point     | Direction      | Increase       |
| Pri. Wave.             | 505           | Reagent Blank  | 10-11          |
| Sec. Wave.             |               | React. Time    | 46-47          |
| JUDGEMENT CRITERIA     |               |                |                |
| Absorbance             | -30000/30000  | Lin. Range     | 1-1000         |
| Incre.Test             |               | Lin. Limit     |                |
| Decre.Test             |               | Subs. Limit    |                |
| Prozone (Rate-Antigen) |               | Q1             |                |
| PC                     |               | Q2             |                |
| ABS                    |               | Q3             |                |
|                        |               | Q4             |                |

*The Calibration is stable until 31 days. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.*

### QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Calibrator, SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### SAMPLES

Serum or plasma<sup>1</sup>.

Stability of the sample: Triglycerides are stable for 5 days at 2-8°C .

### REFERENCE VALUES

Men 40 – 160 mg/dL  
Women 35 – 135 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### NOTES

1. LCF (Lipid Clearing Factor) is integrated in the reagent.
2. Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
3. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

### BIBLIOGRAPHY

1. Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
2. Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
3. Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: MD41031

Cont.

R: 6 x 40 mL

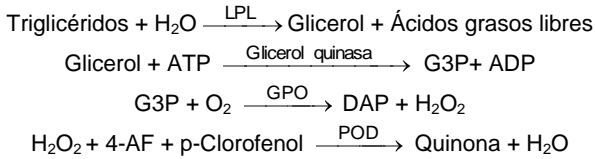
**Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre. Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos. Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación<sup>3,6,7</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|          |                          |            |
|----------|--------------------------|------------|
| <b>R</b> | GOOD pH 6.3              | 50 mmol/L  |
|          | p-Clorofenol             | 2 mmol/L   |
|          | Lipoprotein lipasa (LPL) | 150000U/L  |
|          | Glicerol quinasa (GK)    | 500 U/L    |
|          | Glicerol-3-oxidasa (GPO) | 3500 U/L   |
|          | Peroxidasa (POD)         | 440 U/L    |
|          | 4 - Aminofenazona (4-AF) | 0,1 mmol/L |
| ATP      | 0,1 mmol/L               |            |

**PREPARACIÓN**

El reactivo está listo para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Deterioro de los reactivos**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del blanco (A) a 505 nm  $\geq$  0.40.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Autoanalizador SPIN640
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**PARA LA CARGA DE REACTIVOS MEDIANTE EL CÓDIGO DE BARRAS SE DEBE PRECARGAR LA "BASE DE DATOS" DISPONIBLE BAJO SOLICITUD A SPINREACT.**

**APLICACIÓN AL SPIN640**

| TEST INFORMATION       |               | REAGENT VOLUME |                |
|------------------------|---------------|----------------|----------------|
| Nº                     | **            | Vol. R1        | 300            |
| Test                   | TRIG          | Vol. R2        |                |
| Full Name              | Triglycerides | Vol. R3        |                |
| Standard nº            | 1             | Vol. R4        |                |
| SAMPLE VOLUME          |               | RESULT SETUP   |                |
| Vol. Sample Stand.     | 3             | Decimal        | 1 Slope 1      |
| Vol. Sample Increas.   |               | Unit           | mg/dL Inter. 0 |
| Vol. Sample Dec        |               |                |                |
| REACTION PARAMETERS    |               |                |                |
| Reac. Type             | End Point     | Direction      | Increase       |
| Pri. Wave.             | 505           | Reagent Blank  | 10-11          |
| Sec. Wave.             |               | React. Time    | 46-47          |
| JUDGEMENT CRITERIA     |               |                |                |
| Absorbance             | -30000/30000  | Lin. Range     | 1-1000         |
| Incre.Test             |               | Lin. Limit     |                |
| Decre.Test             |               | Subs. Limit    |                |
| Prozone (Rate-Antigen) |               | Q1             |                |
| PC                     |               | Q2             |                |
| ABS                    |               | Q3             |                |
|                        |               | Q4             |                |

La Calibración es estable hasta **31 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo la Calibración para la obtención de buenos resultados.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**MUESTRAS**

Suero y plasma<sup>1</sup>.  
 Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

**VALORES DE REFERENCIA**

Hombres: 40 – 160 mg/dL  
 Mujeres: 35 – 135 mg/dL  
 Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**NOTAS**

1. LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
2. Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
3. Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: MD41031

 Cont.

R: 6 x 40 mL

**Quantitative determination of bilirubin IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Bilirubin is converted to colored azobilirubin by diazotized sulfanilic acid and measured photometrically. Of the two fractions presents in serum, bilirubin-glucuronide and free bilirubin loosely bound to albumin, only the former reacts directly in aqueous solution (bilirubin direct), while free bilirubin requires solubilization with dimethylsulphoxide (DMSO) to react (bilirubin indirect). In the determination of indirect bilirubin the direct is also determined, the results correspond to total bilirubin.

The intensity of the color formed is proportional to the bilirubin concentration in the sample<sup>1,2,3</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin.

It is transported from the spleen to the liver and excreted into bile.

Hyperbilirubinemia results from the increase of bilirubin concentrations in plasma.

Causes of hyperbilirubinemia:

Total bilirubin: Increase hemolysis, genetic errors, neonatal jaundice, ineffective erythropoiesis, and drugs.

Direct bilirubin: Hepatic cholestasis, genetic errors, hepatocellular damage<sup>1,6,7</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|            |                           |           |
|------------|---------------------------|-----------|
| <b>R 1</b> | Sulfanilic acid           | 30 mmol/L |
|            | Hydrochloric acid (HCl)   | 50 mmol/L |
|            | Dimethylsulphoxide (DMSO) | 7 mol/L   |
| <b>R 2</b> | Sodium nitrite            | 29 mmol/L |

**PRECAUTIONS**

R1/RW: Corrosive (C):R35:Causes severe burns.

S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

**PREPARATION**

Prepare the monoreagent mixing 30 volums of R1 with 1 volum of R2.. Mix gently to dissolve the contents and stabilize the working reagent at room temperature for 30 minutes.. The working reagent is stable 24 hours at room temperature and 1 week at 2-8°C.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.
- Color development in R 2.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyser.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

Serum or plasma, free of hemolysis<sup>1</sup>. Protect samples from direct light.

Stability: Bilirubin is stable at 2-8°C for 4 days and 2 months at -20°C.

**MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION**
**PARAMETERS**

|                 |                     |                 |                      |
|-----------------|---------------------|-----------------|----------------------|
| Test            | BIL / BIL           | R1              | 250 / 250            |
| Nº              | **                  | R2              | *                    |
| Full Name       | BIL / BIL           | Sample volume   | 25 / 25              |
| Standard Nº     |                     | R1 Blank        |                      |
| Reac. Type      | Endpoint / Endpoint | Mixed Rgt Blank |                      |
| Pri. Wavelength | 546 / 546           | Linearity Range | 0.1 mg/dL 15.0 mg/dL |
| Sec. Wavelength |                     | Linearity Limit | *                    |
| Direction       | Increase / Increase | Substrate Limit | *                    |
| Reac. Time      | 1_33 / -1_45        | Factor          | *                    |
| Incuba. Time    |                     | Prozone check   | *                    |
| Units           | mg/dL / mg/dL       | q1              | q2                   |
| Precision       | 0.01 / 0.01         | q3              | q4                   |
|                 |                     | PC              | Abs                  |

**CALIBRATION (Cal + Rgt Blk)**

|                         |                                     |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Rule                    | One-point Linear / Two-point Linear |
| Sensitivity             | 1 / 1                               |
| Replicates              | 2 / 2                               |
| Interval (days)         | 0 / 0                               |
| Difference Limit        |                                     |
| SD                      |                                     |
| Blank Response          |                                     |
| Error Limit             |                                     |
| Correlation Coefficient |                                     |

*Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until 7 days. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.*

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES<sup>1</sup>**

Bilirubin Total Up to 1.10 mg/dL  $\cong$  Up to 18.81  $\mu$ mol/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref: MI1001042

|       |                |
|-------|----------------|
| Cont. | R 1: 5 x 30 mL |
|       | R 2: 1 x 10 mL |

### Determinación cuantitativa de bilirrubina IVD

Conservar a 2-8°C

#### PRINCIPIO DEL METODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, solo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

#### SIGNIFICADO CLINICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina.

Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis.

La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia:

**Bilirrubina Total:** Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas.

**Bilirrubina Directa:** Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas<sup>1,6,7</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

#### REACTIVOS

|     |                         |           |
|-----|-------------------------|-----------|
| R 1 | Ácido sulfanílico       | 30 mmol/L |
|     | Ácido clorhídrico (ClH) | 50 mmol/L |
|     | Dimetilsulfóxido (DMSO) | 7 mol/L   |
| R 2 | Sodio nitrato           | 29 mmol/L |

#### PRECAUCIONES

R1/RT: Corrosivo (C); R35: Provoca quemaduras graves.

S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

#### PREPARACION

Mezclar 30 volúmenes de R1 con 1 volumen de R2. Homogeneizar suavemente y dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso. La estabilidad del reactivo de trabajo (RT) es de 24 horas a temperatura ambiente o 1 semana a 2-8 °C.

#### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

#### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R 2.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio

#### MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis<sup>1</sup>. Proteger de la luz.

Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

### APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E

#### PARAMETROS

|                      |                     |                        |                      |
|----------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| Nombre Abrev         | BIL / BIL           | R1                     | 250 / 250            |
| Numero               | **                  | R2                     | *                    |
| Nombre               | BIL / BIL           | Volumen muestra        | 25 / 25              |
| Num standard         |                     | Blanco R1              |                      |
| Modo                 | P. Final / P. Final | Blanco mezcla reactivo |                      |
| Long onda primaria   | 546 / 546           | Rango linealidad       | 0.1 mg/dL 15.0 mg/dL |
| Long onda secundaria |                     | Límite linealidad      | *                    |
| Dirección            | Aumen / Aumen       | Límite Substrato       | *                    |
| Tiempo reacción      | 1_33 / -1_45        | Factor                 | *                    |
| Tiempo Incubación    |                     | Efecto Prozona         | *                    |
| Unidades             | mg/dL / mg/dL       | q1                     | q2                   |
| Precisión            | 0.01 / 0.01         | q3                     | q4                   |
|                      |                     | PC                     | Abs                  |

#### CALIBRACIÓN (Cal + BI reactivo)

|                          |                                     |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Tipo curva               | Lineal un punto / Lineal dos puntos |
| Sensibilidad             | 1 / 1                               |
| Replicados               | 2 / 2                               |
| Intervalos (días)        | 0 / 0                               |
| Límite aceptación        |                                     |
| Desviación Estandard     |                                     |
| Respuesta del Blanco     |                                     |
| Error Límite             |                                     |
| Coefficiente correlación |                                     |

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **7 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

#### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

#### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

Bilirrubina Total Hasta 1,10 mg/dL  $\cong$  Hasta 18,81  $\mu$ mol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966; Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

#### PRESENTACION

Ref: MI1001042 Cont. R 1: 5 x 30 mL  
R 2: 1 x 10 mL

**Quantitative determination of total protein**
**IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Proteins give an intensive violet-blue complex with copper salts in an alkaline medium. Iodide is included as an antioxidant.

 The intensity of the color formed is proportional to the total protein concentration in the sample<sup>1,4</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

The proteins are macromolecular organic compounds, widely distributed in the organism. They act like structural and transport elements. The proteins of the serum are divided into two fractions, albumin and globulins.

The determination of total proteins is useful in the detection of:

- High protein levels caused by hemoconcentration like in the dehydrations or increase in the concentration of specific proteins.
- Low protein level caused by hemodilution by an impaired synthesis or loss (as by hemorrhage) or excessive protein catabolism<sup>4,5</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|                    |                           |            |
|--------------------|---------------------------|------------|
| <b>R</b><br>Biuret | Sodium potassium tartrate | 15 mmol/L  |
|                    | Sodium iodide             | 100 mmol/L |
|                    | Potassium iodide          | 5 mmol/L   |
|                    | Copper (II) sulphate      | 19 mmol/L  |

**PRECAUTIONS**

Corrosive (C):R35:Causes severe burns.

Copper (II) sulphate: Environmentally dangerous (N): R50/53: Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

S22: Do not breathe dust. S60: This material and its container must be disposed of as hazardous waste. S61: Avoid release to the environment. Refer to special instructions/safety data sheets.

**PREPARATION**

The reagent is ready to use.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 546 nm  $\geq 0.22$ .

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

 Serum or heparinized plasma<sup>1</sup>:

Stability of the sample: 1 month at refrigerator (2-8°C).

**REFERENCE VALUES<sup>1</sup>**

Adults: 6.6 – 8.3 g/dL

Newborn: 5.2 – 9.1 g/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION**

| <u>PARAMETERS</u>       |                                     |                 |           |            |
|-------------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------|------------|
| Test                    | PT / PT                             | R1              | 280 / 280 |            |
| Nº                      | **                                  | R2              | *         |            |
| Full Name               | PT / PT                             | Sample volume   | 7 / 7     |            |
| Standard Nº             |                                     | R1 Blank        |           |            |
| Reac. Type              | Endpoint / Endpoint                 | Mixed Rgt Blank |           |            |
| Pri. Wavelength         | 546 / 546                           | Linearity Range | 1.00 g/dL | 15.00 g/dL |
| Sec. Wavelength         |                                     | Linearity Limit | *         |            |
| Direction               | Increase / Increase                 | Substrate Limit | *         |            |
| Reac. Time              | 1_33 / 0_33                         | Factor          | *         |            |
| Incuba. Time            |                                     | Prozone check   | *         |            |
| Units                   | g/dL / g/dL                         | q1              | q2        |            |
| Precision               | 0.01 / 0.01                         | q3              | q4        |            |
|                         |                                     | PC              | Abs       |            |
| <u>CALIBRATION</u>      |                                     |                 |           |            |
| Rule                    | One-point Linear / Two-point Linear |                 |           |            |
| Sensitivity             | 1 / 1                               |                 |           |            |
| Replicates              | 2 / 2                               |                 |           |            |
| Interval (days)         | 0 / 0                               |                 |           |            |
| Difference Limit        |                                     |                 |           |            |
| SD                      |                                     |                 |           |            |
| Blank Response          |                                     |                 |           |            |
| Error Limit             |                                     |                 |           |            |
| Correlation Coefficient |                                     |                 |           |            |

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until **35 days**. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.

**QUALITY CONTROL**

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINCONTROL H Calibrator, SPINCONTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**NOTES**

1. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref:MI1001291

Cont.

R: 6 x 30 mL

**Determinación cuantitativa de proteínas totales IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

En medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada<sup>1,4</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Se dividen en dos fracciones, albúmina y globulinas.

Su determinación es útil en la detección de:

- Hiperproteinemia producida por hemoconcentración, deshidratación o aumento en la concentración de proteínas específicas.

- Hipoproteinemia por hemodilución debida a un defecto en la síntesis proteica, pérdidas excesivas (hemorragias) o catabolismo proteico excesivo<sup>4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|                    |                        |            |
|--------------------|------------------------|------------|
| <b>R</b><br>Biuret | Potasio sodio tartrato | 15 mmol/L  |
|                    | Yoduro sódico          | 100 mmol/L |
|                    | Yoduro de potasio      | 5 mmol/L   |
|                    | Sulfato de cobre (II)  | 19 mmol/L  |

**PRECAUCION**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.

Sulfato de cobre (II): Peligroso para el medio ambiente (N): R50/53: Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.

S22: No respirar el polvo. S60: Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos. S61: Evítense su liberación el medio ambiente. Recábense instrucciones específicas/las fichas de datos de seguridad.

**PREPARACION**

El reactivo está listo para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 546 nm  $\geq 0,22$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>.

Estabilidad de la muestra: 1 mes en nevera a (2-8°C).

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Adultos: 6,6 – 8,3 g/dL

Recién nacidos: 5,2 – 9,1 g/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E**

| <u>PARAMETROS</u>        |                                     |                        |                      |
|--------------------------|-------------------------------------|------------------------|----------------------|
| Nombre Abrev             | PT / PT                             | R1                     | 280 / 280            |
| Numero                   | **                                  | R2                     | *                    |
| Nombre                   | PT / PT                             | Volumen muestra        | 7 / 7                |
| Num standard             |                                     | Blanco R1              |                      |
| Modo                     | P. Final / P. Final                 | Blanco mezcla reactivo |                      |
| Long onda primaria       | 546 / 546                           | Rango linealidad       | 1.00 g/dL 15.00 g/dL |
| Long onda secundaria     |                                     | Límite linealidad      | *                    |
| Dirección                | Aumen / Aumen                       | Límite Substrato       | *                    |
| Tiempo reacción          | 1_33/0_33                           | Factor                 | *                    |
| Tiempo Incubación        |                                     | Efecto Prozona         | *                    |
| Unidades                 | g/dL / g/dL                         | q1                     | q2                   |
| Precisión                | 0.01 / 0.01                         | q3                     | q4                   |
|                          |                                     | PC                     | Abs                  |
| <u>CALIBRACIÓN</u>       |                                     |                        |                      |
| Tipo curva               | Lineal un punto / Lineal dos puntos |                        |                      |
| Sensibilidad             | 1 / 1                               |                        |                      |
| Replicados               | 2 / 2                               |                        |                      |
| Intervalos (días)        | 0 / 0                               |                        |                      |
| Límite aceptación        |                                     |                        |                      |
| Desviación Estandard     |                                     |                        |                      |
| Respuesta del Blanco     |                                     |                        |                      |
| Error Límite             |                                     |                        |                      |
| Coefficiente correlación |                                     |                        |                      |

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **35 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**NOTAS**

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref:MI1001291

Cont.

R: 6 x 30 mL

# Uric acid

Uricase -POD. Liquid

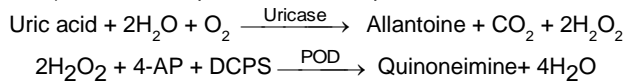
## Quantitative determination of uric acid

### IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Uric acid is oxidized by uricase to allantoin and hydrogen peroxide (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), which under the influence of POD, 4-aminophenazone (4-AP) and 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) forms a red quinoneimine compound:



The intensity of the red color formed is proportional to the uric acid concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Uric acid and its salts are end products of the purine metabolism. With progressive renal insufficiency, there is retention in blood of urea, creatinine and uric acid.

Elevate uric acid level may be indicative of renal insufficiency and is commonly associated with gout<sup>1,5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

|            |                                     |           |
|------------|-------------------------------------|-----------|
| <b>R 1</b> | Phosphate pH 7.4                    | 50 mmol/L |
| Buffer     | 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) | 4 mmol/L  |
| <b>R 2</b> | Uricase                             | 60 U/L    |
| Enzymes    | Peroxidase (POD)                    | 660 U/L   |
|            | Ascorbate oxidase                   | 200 U/L   |
|            | 4 – Aminophenazone (4-AP)           | 1 mmol/L  |

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 520 nm ≥ 0.16.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

- Serum or plasma<sup>1</sup>: Stability 3-5 days at 2-8°C or 6 months at -20°C.

- Urine (24 h)<sup>1</sup>: Stability 4 days at 15-25°C, pH >8. Dilute sample 1/50 in distilled water. Mix. Multiply results by 50 (dilution factor); If urine is cloudy; warm the specimen to 60°C for 10 min to dissolve precipitated urates and uric acid. Do not refrigerate.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Serum or plasma:

Women 2.5 - 6.8 mg/dL ≅ 149 - 405 μmol/L

Men 3.6 - 7.7 mg/dL ≅ 214 - 458 μmol/L

Urine: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1.49 - 4.5 mmol/24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

## MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION

### PARAMETERS

|                 |                     |                 |                        |
|-----------------|---------------------|-----------------|------------------------|
| Test            | URIC / URIC         | R1              | 180 / 180              |
| Nº              | **                  | R2              | 180 / 180              |
| Full Name       | URIC / URIC         | Sample volume   | 9 / 9                  |
| Standard Nº     |                     | R1 Blank        |                        |
| Reac. Type      | Endpoint / Endpoint | Mixed Rgt Blank |                        |
| Pri. Wavelength | 510 / 505           | Linearity Range | 0.03 mg/dL 25.00 mg/dL |
| Sec. Wavelength |                     | Linearity Limit | *                      |
| Direction       | Increase / Increase | Substrate Limit | *                      |
| Reac. Time      | 1_17 / 0_17         | Factor          | *                      |
| Incuba. Time    |                     | Prozone check   | *                      |
| Units           | mg/dL / mg/dL       | q1              | q2                     |
| Precision       | 0.01/ 0.01          | q3              | q4                     |
|                 |                     | PC              | Abs                    |

### CALIBRATION (Cal + Rgt Blk)

|                         |                                     |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Rule                    | One-point Linear / Two-point Linear |
| Sensitivity             | 1 / 1                               |
| Replicates              | 2 / 2                               |
| Interval (days)         | 0 / 0                               |
| Difference Limit        |                                     |
| SD                      |                                     |
| Blank Response          |                                     |
| Error Limit             |                                     |
| Correlation Coefficient |                                     |

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until **35 days**. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.

### QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Calibrator, SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### NOTES

1. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

### BIBLIOGRAPHY

1. Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
2. Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995

### PACKAGING

Ref. MI41001



R1: 3 x 30 mL.

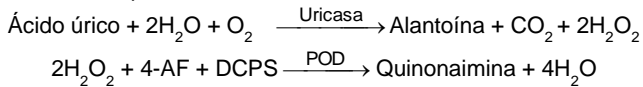
R2: 3 x 30 mL.

**Determinación cuantitativa de ácido úrico IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo:



La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

El ácido úrico y sus sales son el producto final del metabolismo de las purinas. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de ácido úrico son indicativos de patología renal y generalmente se asocia con la gota<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|            |                                   |           |
|------------|-----------------------------------|-----------|
| <b>R 1</b> | Fosfatos pH 7,4                   | 50 mmol/L |
| Tampón     | 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) | 4 mmol/L  |
| <b>R 2</b> | Uricasa                           | 60 U/L    |
| Enzimas    | Peroxidasa (POD)                  | 660 U/L   |
|            | Ascorbato oxidasa                 | 200 U/L   |
|            | 4 - Aminofenazona (4-AF)          | 1 mmol/L  |

**PREPARACIÓN**

Todos los reactivos están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm ≥ 0,16.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma<sup>1</sup>: Estabilidad 3-5 días a 2-8°C y 6 meses a -20°C.
- Orina (24 h)<sup>1</sup>: Estabilidad 3 días a temperatura ambiente a pH > 8. Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución); Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados de urato y ácido úrico. No refrigerar.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

Mujeres 2,5 - 6,8 mg/dL ≅ 149 - 405 μmol/L

Hombre 3,6 - 7,7 mg/dL ≅ 214 - 458 μmol/L

s

Orina: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1,49 - 4,5 mmol/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E**
**PARAMETROS**

|                      |                     |                        |                        |
|----------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| Nombre Abrev         | URIC / URIC         | R1                     | 180 / 180              |
| Numero               | **                  | R2                     | 180 / 180              |
| Nombre               | URIC / URIC         | Volumen muestra        | 9 / 9                  |
| Num standard         |                     | Blanco R1              |                        |
| Modo                 | P. Final / P. Final | Blanco mezcla reactivo |                        |
| Long onda primaria   | 510 / 505           | Rango linealidad       | 0.03 mg/dL 25.00 mg/dL |
| Long onda secundaria |                     | Límite linealidad      | *                      |
| Dirección            | Aumen / Aumen       | Límite Substrato       | *                      |
| Tiempo reacción      | 1_17 / 0_17         | Factor                 | *                      |
| Tiempo Incubación    |                     | Efecto Prozona         | *                      |
| Unidades             | mg/dL / mg/dL       | q1                     | q2                     |
| Precisión            | 0.01 / 0.01         | q3                     | q4                     |
|                      |                     | PC                     | Abs                    |

**CALIBRACIÓN (Cal + Bl reactivo)**

|                          |                                     |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Tipo curva               | Lineal un punto / Lineal dos puntos |
| Sensibilidad             | 1 / 1                               |
| Replicados               | 2 / 2                               |
| Intervalos (días)        | 0 / 0                               |
| Límite aceptación        |                                     |
| Desviación Estandard     |                                     |
| Respuesta del Blanco     |                                     |
| Error Límite             |                                     |
| Coefficiente correlación |                                     |

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **35 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**NOTAS**

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
2. Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref. MI41001

Cont.

R1: 3 x 30 mL.

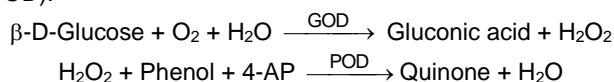
R2: 3 x 30 mL.

**Quantitative determination of glucose IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Glucose oxidase (GOD) catalyses the oxidation of glucose to gluconic acid. The formed hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), is detected by a chromogenic oxygen acceptor, phenol, 4 – aminophenazone (4-AP) in the presence of peroxidase (POD):



The intensity of the color formed is proportional to the glucose concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Glucose is a major source of energy for most cells of the body; insulin facilitates glucose entry into the cells. Diabetes is a disease manifested by hyperglycemia; patients with diabetes demonstrate an inability to produce insulin<sup>1,5,6</sup>. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|          |                           |            |
|----------|---------------------------|------------|
| <b>R</b> | TRIS pH 7.4               | 92 mmol/L  |
|          | Phenol                    | 0.3 mmol/L |
|          | Glucose oxidase (GOD)     | 15000 U/L  |
|          | Peroxidase (POD)          | 1000 U/L   |
|          | 4 – Aminophenazone (4-AP) | 2.6 mmol/L |

**PREPARATION**

The reagent is ready to use.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**SIGNS OF REAGENT DETERIORATION:**

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0.32.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

Serum or plasma, free of hemolysis<sup>1</sup>:

Serum should be removed from the clot as quickly as possible.

Stability of the sample: Glucose in serum or plasma is stable at 2-8° for 3 days.

**REFERENCE VALUES<sup>1</sup>**

Serum or plasma:

60 – 110 mg/dL ≅ 3.33 – 6.10 mmol/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION**

| <u>PARAMETERS</u>                 |                                     |                 |                   |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------|
| Test                              | GLU / GLU                           | R1              | 300 / 300         |
| Nº                                | **                                  | R2              | *                 |
| Full Name                         | GLU / GLU                           | Sample volume   | 3 / 3             |
| Standard Nº                       |                                     | R1 Blank        |                   |
| Reac. Type                        | Endpoint / Endpoint                 | Mixed Rgt Blank |                   |
| Pri. Wavelength                   | 510 / 505                           | Linearity Range | 0 mg/dL 500 mg/dL |
| Sec. Wavelength                   |                                     | Linearity Limit | *                 |
| Direction                         | Increase / Increase                 | Substrate Limit | *                 |
| Reac. Time                        | 1_33 / 0_33                         | Factor          | *                 |
| Incuba. Time                      |                                     | Prozone check   | *                 |
| Units                             | mg/dL / mg/dL                       | q1              | q2                |
| Precision                         | Interger / Interger                 | q3              | q4                |
|                                   |                                     | PC              | Abs               |
| <u>CALIBRATION (Cal + Rgt Bk)</u> |                                     |                 |                   |
| Rule                              | One-point Linear / Two-point Linear |                 |                   |
| Sensitivity                       | 1 / 1                               |                 |                   |
| Replicates                        | 2 / 2                               |                 |                   |
| Interval (days)                   | 0 / 0                               |                 |                   |
| Difference Limit                  |                                     |                 |                   |
| SD                                |                                     |                 |                   |
| Blank Response                    |                                     |                 |                   |
| Error Limit                       |                                     |                 |                   |
| Correlation Coefficient           |                                     |                 |                   |

*Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until 35 days. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.*

**QUALITY CONTROL**

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Calibrator, SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**NOTES**

1. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
2. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6 24-33.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref: MI41011

Cont.

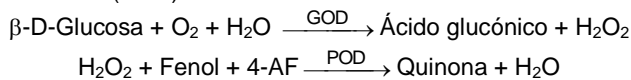
R: 6 x 30 mL

**Determinación cuantitativa de glucosa IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de la peroxidasa (POD):



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células.

La diabetes mellitus es una enfermedad que se manifiesta por una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|          |                          |            |
|----------|--------------------------|------------|
| <b>R</b> | TRIS pH 7,4              | 92 mmol/L  |
|          | Fenol                    | 0,3 mmol/L |
|          | Glucosa oxidasa (GOD)    | 15000 U/L  |
|          | Peroxidasa (POD)         | 1000 U/L   |
|          | 4 - Aminofenazona (4-AF) | 2,6 mmol/L |

**PREPARACIÓN**

El reactivo está listo para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm  $\geq 0,32$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma, libre de hemólisis<sup>1</sup>.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

Estabilidad de la muestra: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

60 – 110 mg/dL  $\cong$  3,33 – 6,10 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E**

| <u>PARAMETROS</u>                      |                                     |                        |                   |
|--|-------------------------------------|------------------------|-------------------|
| Nombre Abrev                           | GLU / GLU                           | R1                     | 300 / 300         |
| Numero                                 | **                                  | R2                     | *                 |
| Nombre                                 | GLU / GLU                           | Volumen muestra        | 3 / 3             |
| Num standard                           |                                     | Blanco R1              |                   |
| Modo                                   | P. Final / P. Final                 | Blanco mezcla reactivo |                   |
| Long onda primaria                     | 510 / 505                           | Rango linealidad       | 0 mg/dL 500 mg/dL |
| Long onda secundaria                   |                                     | Límite linealidad      | *                 |
| Dirección                              | Aumen / Aumen                       | Límite Substrato       | *                 |
| Tiempo reacción                        | 1_33/0_33                           | Factor                 | *                 |
| Tiempo Incubación                      |                                     | Efecto Prozona         | *                 |
| Unidades                               | mg/dL / mg/dL                       | q1                     | q2                |
| Precisión                              | Entero / Entero                     | q3                     | q4                |
|  |                                     | PC                     | Abs               |
| <u>CALIBRACIÓN (Cal + BI reactivo)</u> |                                     |                        |                   |
| Tipo curva                             | Lineal un punto / Lineal dos puntos |                        |                   |
| Sensibilidad                           | 1 / 1                               |                        |                   |
| Replicados                             | 2 / 2                               |                        |                   |
| Intervalos (días)                      | 0 / 0                               |                        |                   |
| Límite aceptación                      |                                     |                        |                   |
| Desviación Estandar                    |                                     |                        |                   |
| Respuesta del Blanco                   |                                     |                        |                   |
| Error Límite                           |                                     |                        |                   |
| Coefficiente correlación               |                                     |                        |                   |

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **35 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**NOTAS**

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
2. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: MI41011

Cont.

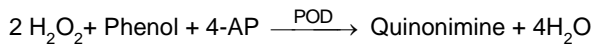
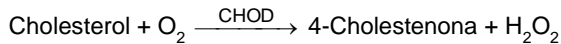
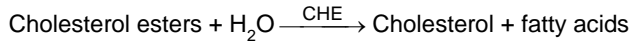
R: 6 x 30 mL

**Quantitative determination of cholesterol IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

The cholesterol present in the sample originates a coloured complex, according to the following reactions:


 The intensity of the color formed is proportional to the cholesterol concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Cholesterol is a fat-like substance called a lipid that is found in all body cells. The liver makes all of the cholesterol the body needs to form cell membranes and to make certain hormones. The determination of serum cholesterol is one of the important tools in the diagnosis and classification of lipemia.

 High blood cholesterol is one of the major risk factors for heart disease<sup>5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|          |                            |            |
|----------|----------------------------|------------|
| <b>R</b> | PIPES pH 6.9               | 90 mmol/L  |
|          | Phenol                     | 26 mmol/L  |
|          | Cholesterol esterase (CHE) | 1000 U/L   |
|          | Cholesterol oxidase (CHOD) | 300 U/L    |
|          | Peroxidase (POD)           | 650 U/L    |
|          | 4 – Aminophenazone (4-AP)  | 0.4 mmol/L |

**PREPARATION**

The reagent is ready to use.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm  $\geq 0.26$ .

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

 Serum or plasma<sup>1,2</sup>: Stability of the sample 7 days at 2-8°C or freezing at -20°C will keep samples stable for 3 months.

**REFERENCE VALUES**

 Risk evaluation<sup>5,6</sup>:

|                     |            |
|---------------------|------------|
| Less than 200 mg/dL | Normal     |
| 200-239 mg/dL       | Borderline |
| 240 mg/dL and above | High       |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION**
**PARAMETERS**

|                 |                     |                 |                   |
|-----------------|---------------------|-----------------|-------------------|
| Test            | CHOL / CHOL         | R1              | 300 / 300         |
| Nº              | **                  | R2              | *                 |
| Full Name       | CHOL / CHOL         | Sample volume   | 3 / 3             |
| Standard Nº     |                     | R1 Blank        |                   |
| Reac. Type      | Endpoint / Endpoint | Mixed Rgt Blank |                   |
| Pri. Wavelength | 510 / 505           | Linearity Range | 0 mg/dL 600 mg/dL |
| Sec. Wavelength |                     | Linearity Limit | *                 |
| Direction       | Increase / Increase | Substrate Limit | *                 |
| Reac. Time      | 1_17 / 0_17         | Factor          | *                 |
| Incuba. Time    |                     | Prozone check   | *                 |
| Units           | mg/dL / mg/dL       | q1              | q2                |
| Precision       | Interger / Interger | q3              | q4                |
|                 |                     | PC              | Abs               |

**CALIBRATION (Cal + Rgt Bk)**

|                         |                                     |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Rule                    | One-point Linear / Two-point Linear |
| Sensitivity             | 1 / 1                               |
| Replicates              | 2 / 2                               |
| Interval (days)         | 0 / 0                               |
| Difference Limit        |                                     |
| SD                      |                                     |
| Blank Response          |                                     |
| Error Limit             |                                     |
| Correlation Coefficient |                                     |

*Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until 35 days. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.*

**QUALITY CONTROL**

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Calibrator, SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**NOTES**

1. LCF (Lipid Clearing Factor) is integrated in the reagent.
2. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
3. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
2. Meattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref: MI41021

Cont.

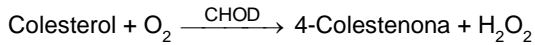
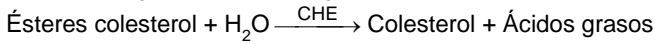
R: 6 x 30 mL

### Determinación cuantitativa de colesterol IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular<sup>5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

|                          |                           |            |
|--------------------------|---------------------------|------------|
| <b>R</b>                 | PIPES pH 6.9              | 90 mmol/L  |
|                          | Fenol                     | 26 mmol/L  |
|                          | Colesterol esterasa (CHE) | 1000 U/L   |
|                          | Colesterol oxidasa (CHOD) | 300 U/L    |
|                          | Peroxidasa (POD)          | 650 U/L    |
| 4 - Aminofenazona (4-AF) |                           | 0,4 mmol/L |

### PREPARACIÓN

El reactivo está listo para su uso.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm  $\geq 0,26$ .

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma<sup>1,2</sup>. Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y 3 meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).

### VALORES DE REFERENCIA

Evaluación del riesgo<sup>5,6</sup>:

|                    |          |
|--------------------|----------|
| Menos de 200 mg/dL | Normal   |
| 200-239 mg/dL      | Moderado |
| 240 o más          | Alto     |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E

| PARAMETROS                      |                                     |                        |                   |
|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------|
| Nombre Abrev                    | COL / COL                           | R1                     | 300 / 300         |
| Numero                          | **                                  | R2                     | *                 |
| Nombre                          | COL / COL                           | Volumen muestra        | 3 / 3             |
| Num standard                    |                                     | Blanco R1              |                   |
| Modo                            | P. Final / P. Final                 | Blanco mezcla reactivo |                   |
| Long onda primaria              | 510 / 505                           | Rango linealidad       | 0 mg/dL 600 mg/dL |
| Long onda secundaria            |                                     | Límite linealidad      | *                 |
| Dirección                       | Aumen / Aumen                       | Límite Substrato       | *                 |
| Tiempo reacción                 | 1_17 / 0_17                         | Factor                 | *                 |
| Tiempo Incubación               |                                     | Efecto Prozona         | *                 |
| Unidades                        | mg/dL / mg/dL                       | q1                     | q2                |
| Precision                       | Entero / Entero                     | q3                     | q4                |
|                                 |                                     | PC                     | Abs               |
| CALIBRACIÓN (Cal + Bl reactivo) |                                     |                        |                   |
| Tipo curva                      | Lineal un punto / Lineal dos puntos |                        |                   |
| Sensibilidad                    | 1 / 1                               |                        |                   |
| Replicados                      | 2 / 2                               |                        |                   |
| Intervalos (días)               | 0 / 0                               |                        |                   |
| Límite aceptación               |                                     |                        |                   |
| Desviación Estandard            |                                     |                        |                   |
| Respuesta del Blanco            |                                     |                        |                   |
| Error Límite                    |                                     |                        |                   |
| Coeficiente correlación         |                                     |                        |                   |

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de calib. La calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **35 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### NOTAS

1. LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
2. Meiatini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: MI41021

Cont.

R: 6 x 30 mL

**Quantitative determination of magnesium IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Magnesium forms a coloured complex when reacts with Magon sulfonate in alkaline solution.

 The intensity of the color formed is proportional to the magnesium concentration in the sample<sup>1</sup>.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Magnesium is the second more abundant intracellular cation of the human body after potassium, being essential in great number of enzymatic and metabolic processes.

Is a cofactor of all the enzymatic reactions that involve the ATP and comprises of the membrane that maintains the electrical excitability of the muscular and nervous cells.

A low magnesium level is found in malabsorption syndrome, diuretic or aminoglycoside therapy; hyperparathyroidism or diabetic acidosis.

 Elevated concentration of magnesium is found in uremia, chronic renal failure, glomerulonephritis, Addisons's disease or intensive anti acid therapy<sup>1,4,5</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

|                 |                   |             |
|-----------------|-------------------|-------------|
| <b>R</b>        | Xylidyl Blue      | 0.1 mmol/L  |
|                 | Thioglycolic acid | 0.7 mmol/L  |
|                 | DMSO              | 3000 mmol/L |
| <b>OPTIONAL</b> | SPINTROL H CAL    |             |

**PRECAUTIONS**

Corrosive (C): R35: Causes severe burns.

S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

**PREPARATION**

The reagent is ready to use.

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles, color change and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 546  $\geq$  1.8.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 546 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment <sup>(Note 2)</sup>.

**SAMPLES**

- Serum, heparinized plasma<sup>1</sup>: Free of hemolysis and separated from cells as rapidly as possible.

Do not use oxalates or EDTA as anticoagulant.

Stability: 7 days at 2-8°C.

- Urine<sup>1</sup>:

Should be acidified to pH 1 with HCl.

If urine is cloudy; warm the specimen to 60°C for 10 min. to dissolve precipitates.

Dilute the sample 1/10 with distilled water and multiply the result by 10. Stability: 3 days at 2-8°C

**APLICACIÓN SPINLAB 180**

|                  |             |                  |       |
|------------------|-------------|------------------|-------|
| Name             | MAGNESIUM   | Ref. male low    | 1.6   |
| Abbr. Name       | MG          | Ref. male high   | 2.5   |
| Mode             | Endpoint    | Ref. female low  | 1.6   |
| Wavelength       | 546 nm      | Ref. female high | 2.5   |
| Units            | mg/dL       | Ref. Ped. Low    | 0.0   |
| Decimals         | 2           | Ref. Ped. High   | 5.0   |
| Low Conc.        | 0.3         | Control 1        | *     |
| High Conc.       | 5.0         | Control 2        | *     |
| Calibrator name  | CAL         | Control 3        | *     |
| Cut-off          | No          | Correlat. factor | 1.000 |
|                  |             | Correlat. offset | 0.000 |
| <b>DUAL MODE</b> |             |                  |       |
| Sample blank     | No          |                  |       |
| R1 bottle (mL)   | 25 mL       |                  |       |
| normal volume    | 300 $\mu$ L |                  |       |
| rerun volume     | 300 $\mu$ L |                  |       |
| Sample           |             |                  |       |
| normal volume    | 3.0 $\mu$ L |                  |       |
| rerun volume     | 2.0 $\mu$ L |                  |       |
| R2 bottle (mL)   | 5 mL        |                  |       |
| normal volume    | 0 $\mu$ L   |                  |       |
| rerun volume     | 0 $\mu$ L   |                  |       |
| Predilución      | No          |                  |       |
| Incubation time  | 4.5 min.    |                  |       |
| Factor           |             |                  |       |
| Reagent blank    | Yes         |                  |       |
| Low Absorbance   | -0.100 Abs  |                  |       |
| High Absorbance  | 3.000 Abs   |                  |       |
| R. Abs. L. Limit | -0.100 Abs  |                  |       |
| R. Abs. H. Limit | 3.000 Abs   |                  |       |

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES<sup>1</sup>**

Serum or plasma:

$$1.6 - 2.5 \text{ mg/dL} \cong 0.66 - 0.03 \text{ mmol/L}$$

Urine:

$$24 - 244 \text{ mg/24 h} \cong 2 - 21 \text{ mEq/L/24 h}$$

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**NOTES**

1. It is recommended use disposable material to avoid magnesium contamination. If glassware is used the material should be scrupulously clean with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> and then thoroughly rinsed with distilled water and dried before use.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
3. Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref: SP1001285

Cont.

R: 10 x 25 mL

**Determinación cuantitativa de magnesio**
**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL METODO**

El magnesio forma un complejo coloreado al reaccionar con Magon sulfonado en solución alcalina.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de magnesio en la muestra ensayada<sup>1</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

El magnesio, es el segundo catión intracelular más abundante en el organismo humano después del potasio, siendo esencial en gran número de procesos enzimáticos y metabólicos.

Es un cofactor en todas las reacciones enzimáticas que involucran al ATP y forma parte de la membrana que mantiene la excitabilidad eléctrica de las células musculares y nerviosas.

Principales causas de déficit de magnesio son mala absorción intestinal, administración de diuréticos o aminoglucósidos, hiperparatiroidismo o acidosis diabética.

Niveles altos de magnesio se hallan en la uremia, fallo renal, glomerulonefritis, enfermedad de Addison o terapia intensiva con antiácidos<sup>1,4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

|                 |                    |             |
|-----------------|--------------------|-------------|
| <b>R</b>        | Azul de Xilydil    | 0.1 mmol/L  |
|                 | Acido Tioglicólico | 0,7 mmol/L  |
|                 | DMSO               | 3000 mmol/L |
| <b>OPCIONAL</b> | SPINTROL H CAL     |             |

**PRECAUCIONES**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.

S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

**PREPARACION**

El reactivo está listo para su uso.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas, cambio de color y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 546  $\geq$  1,8.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 546 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 2)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>: Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematias. No usar oxalato o EDTA como anticoagulante. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.
- Orina<sup>1</sup>: Ajustar a pH 1 con CIH. Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad de la muestra: 3 días a 2-8°C.

**APLICACIÓN AL SPINLAB 180**

|                      |             |                   |       |
|----------------------|-------------|-------------------|-------|
| Nombre               | Magnesio    | Ref. Hombre Inf.  | 1.6   |
| Nombre abreviado     | MG          | Ref. Hombre Sup.  | 2.5   |
| Modo                 | Endpoint    | Ref. Mujer Inf.   | 1.6   |
| Long. ondas          | 546 nm      | Ref. Mujer Sup.   | 2.5   |
| Unidades             | mg/dL       | Ref. Ped. Inf.    | 0.0   |
| Decimales            | 2           | Ref. Ped. Sup.    | 5.0   |
| Conc. Inferior       | 0.3 mg/dL   | Valor pánico bajo | *     |
| Conc. Superior       | 5.0 mg/dL   | Valor pánico alto | *     |
| Calibrador           | CAL         | Control 1         | *     |
| Chequeo prozona      | No          | Control 2         | *     |
|                      |             | Control 3         | *     |
|                      |             | Factor correl.    | 1.000 |
|                      |             | Offset de correl. | 0.000 |
| <b>MODO DUAL</b>     |             |                   |       |
| Blanco muestra       | No          |                   |       |
| Frasco R1 (mL)       | 25 mL       |                   |       |
| Vol. normal          | 300 $\mu$ L |                   |       |
| Vol. repet.          | 300 $\mu$ L |                   |       |
| Muestra              |             |                   |       |
| Vol. normal          | 3.0 $\mu$ L |                   |       |
| Vol. repet.          | 2.0 $\mu$ L |                   |       |
| Frasco R2 (mL)       | 5 mL        |                   |       |
| Vol. normal          | 0 $\mu$ L   |                   |       |
| Vol. repet.          | 0 $\mu$ L   |                   |       |
| Predilución          | No          |                   |       |
| Incubación           | 4.5 min.    |                   |       |
| Factor               |             |                   |       |
| Blanco reactivo      | Si (0.000)  |                   |       |
| Absorbancia inf.     | -0.100 Abs  |                   |       |
| Absorbancia sup.     | 3.000 Abs   |                   |       |
| Lim.Inf. Abs. React. | -0.100 Abs  |                   |       |
| Lim.Sup. Abs. React. | 3.000 Abs   |                   |       |

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

$$1,6 - 2,5 \text{ mg/dL} \cong 0,66 - 1,03 \text{ mmol/L}$$

Orina:

$$24-244 \text{ mg/24 horas} \cong 2-21 \text{ mEq/L/24 horas}$$

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**NOTAS**

1. Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones de magnesio. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFIA**

1. Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACION**

Ref: SP1001285

 Cont.

R:10 x 25 mL