

ACB-Bilirubine Totale/Directe DMSO, colorimétrique

REF BIL5002

R1 1 x 100 ml
R2 1 x 100 ml
R3 1 x 7 ml

Utilisation

Réactif pour la détermination quantitative de la bilirubine totale et directe dans le sérum et le plasma humains par un système manuel ou automatique.

Rappel

Le taux moyen de la bilirubine produite chez l'être humain à partir de différentes sources varie de 250 à 300 mg/jour, dont 85 % proviennent de la fraction hémique de l'hémoglobine libérée par les hématies sénescents détruites dans le système réticulo-endothélial.

Les 15 % restantes proviennent d'érythrocytes détruits dans la moelle osseuse et du catabolisme des autres hémoprotéines telles que les cytochromes et la myoglobine. A son arrivée dans les tissus périphériques, la bilirubine est transportée vers le foie en s'associant avec l'albumine, où elle est conjuguée avec l'acide glucuronique afin d'être soluble et transportée dans les voies biliaires, elle sera ensuite éliminée par le tube digestif.

Les pathologies affectant le processus hémolytique entraînent une libération accrue de la bilirubine, cette dernière ne peut être métabolisée par le foie, ce qui engendre une augmentation des taux de bilirubine non conjuguée (indirecte) dans la circulation. L'obstruction des voies biliaires ou les lésions hépatiques entraînent une augmentation des taux de bilirubine conjuguée (directe) et non conjuguée (indirecte) dans la circulation.

Principe de la méthode

L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté qui réagit à son tour directement avec la bilirubine conjuguée (Directe) soluble dans une solution aqueuse, déterminant ainsi la concentration de bilirubine directe. Tandis que la bilirubine libre ne réagira qu'après l'ajout d'un solubilisant (DMSO) pour rompre les liaisons bilirubine-albumine. En présence de DMSO, la bilirubine (directe et indirecte) se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner une azobilirubine, dont l'absorbance à 550 nm est proportionnelle à la concentration de la bilirubine totale.

Composition

R1 : Bilirubine D	(C) Corrosif
Acide sulfanilique	30 mmol/L
HCL	150 mmol/L
R2 : Bilirubine T	(C) Corrosif
Acide sulfanilique	30 mmol/L
HCL	150 mmol/L
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mol/L
R3 : Nitrite de sodium	(Xi) Irritant
	29 mmol/L

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler, éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.

Préparation, conservation et stabilité

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Symboles sur l'emballage du produit

	Pour diagnostic in vitro		Températures limites
	Numéro de lot		Date d'expiration
	Référence		Fabriqué par
	ATTENTION. Lire les instructions d'utilisation		(C) - Corrosif
			(Xi) - Irritant

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes lorsqu'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C et à l'abri de la lumière.

Après ouverture, les réactifs non contaminés sont stables 6 mois dans les conditions spécifiées.

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif en cas de précipitation.

Prélèvement, conservation et stabilité des échantillons

Utiliser du sérum ou du plasma non hémolysés.

La bilirubine est photolabile, conserver les échantillons à l'abri de la lumière.

Les seuls anticoagulants acceptables sont l'héparine et l'oxalate.

Les échantillons de bilirubine totale sont stables pendant 1 jour à 20-25°C, 7 jours à 4-8°C et 6 mois à -20°C.

Les échantillons de bilirubine directe sont stables pendant 2 jour à 20-25°C, 7 jours à 4-8°C et 6 mois à -20°C.

Procédure

Paramètres du système

Longueur d'onde 546 nm (530 - 560)

Bilirubine directe

1. Pipeter dans des tubes à essai:

	Blanc	Echantillon
R1	1.5 ml	1.5 ml
R3	-----	50 µl
Echantillon	100 µl	100 µl

2. Bien mélanger.

Incuber à 20-25°C pendant 5 minutes puis lire l'absorbance de l'échantillon (A échantillon) contre le blanc (A blanc).

Bilirubine totale

1. Pipeter dans des tubes à essai:

	Blanc	Echantillon
R2	1.5 ml	1.5 ml
R3	-----	50 µl
Echantillon	100 µl	100 µl

2. Bien mélanger.

Incuber à 20-25°C pendant 5 minutes puis lire l'absorbance de l'échantillon (A échantillon) contre le blanc (A blanc).

Calcul

Conc. Bilirubine (mg/L) = (A Echantillon - A blanc) x Facteur*

(*) : Facteur théorique

Bilirubine directe = 140

Bilirubine totale = 191

Pour convertir le mg/L en µmol/L, multiplier le résultat x 1.71

Remarque

Pour le dosage de la bilirubine chez le nouveau-né, pipeter 50 µl de l'échantillon. Résultat x 2.

Contrôle de qualité

Il est recommandé de tester conjointement des sérums de contrôle normal et pathologique à chaque série de tests.

ACB-Normotrol [REF] GLUN001 [REF] GLUN003

ACB-Pathotrol [REF] GLUP001 [REF] GLUP003

Performance de la méthode

Précision

Répétabilité intra-série				
	N (20)	Moyenne (mg/L)	SD	CV %
Totale	Niveau 1	7.9	0.016	2.13
	Niveau 2	43.7	0.18	4.12
Directe	Niveau 1	2.99	0.016	5.41
	Niveau 2	7.7	0.057	7.4

Reproductibilité inter-série				
	N (20)	Moyenne (mg/L)	SD	CV %
Totale	Niveau 1	8.2	0.02	2.24
	Niveau 2	45.2	0.27	4.21
Directe	Niveau 1	3.2	0.023	5.57
	Niveau 2	8.2	0.062	8.1

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection du réactif est de 1 mg/L (1.7 µmol/L) pour la bilirubine totale et de 0.4 mg/L (0.68 µmol/L) pour la bilirubine directe.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration de 180 mg/L (308 µmol/L) en bilirubine totale et en bilirubine directe.

Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués à 1/5 en utilisant une solution physiologique saline.
Répéter l'essai, (résultat x 5).

Intervalle analytique

Bilirubine totale : 1 - 180 mg/L (1.7 - 308 µmol/L)
Bilirubine directe : 0.4 - 180 mg/L (0.68 - 308 µmol/L)

Interférences

Les échantillons hémolysés ou lipémiques interfèrent avec le test.

Médicaments

La théophylline et le propranolol peuvent provoquer des taux de bilirubine totale faussement bas.

Valeurs de référence

Bilirubine totale

Adultes et enfants > 1 mois	2 - 11 mg/L	(3.4 - 17 µmol/L)
Nouveau-nés prématurés (3 - 5 jours)	100 - 140 mg/L	(171 - 239 µmol/L)
Nouveau nés		
(3 - 5 jours)	40 - 80 mg/L	(68 - 137 µmol/L)
(< 48 h)	60 - 100 mg/L	(103 - 171 µmol/L)
(< 24 h)	20 - 60 mg/L	(34 - 103 µmol/L)
Bilirubine directe	0 - 3 mg/L	(0 - 5.1 µmol/L)

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé par des professionnels dans les laboratoires. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Eliminer ce matériel et son emballage dans un conteneur de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un conteneur adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Eviter l'élimination dans la nature ; se référer aux instructions de fiche de sécurité.

Bibliographie

- Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1987:729-761.
- Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimetric method. J Biol Chem. 1937;119:481-490.
- Tietz NW, ed. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995:268-273.