



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

BILIRUBINE TOTALE ET DIRECTE

Méthode Acide sulfanilique

Réactif pour le dosage quantitatif de la Bilirubine Totale (accélérateur : DMSO) et Directe dans le sérum et le plasma humains.

REF 80403 R1 1 x 200 mL R2 1 x 200 mL R3 1 x 40 mL	REF 80443 R1 2 x 200 mL R3 1 x 40 mL	REF 80553 R2 2 x 200 mL R3 1 x 40 mL
---	--	--

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr



Made In France

I : correspond aux modifications significatives

USAGE PREVU

I Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée).

Il permet le dosage quantitatif de la bilirubine totale et directe dans le sérum humain et le plasma humains.

GENERALITES (1) (6)

Au moins quatre sortes de bilirubines coexistent dans le sérum : la bilirubine directe (BD) correspond à la bilirubine dite mono et di-conjuguée (β et γ Bilirubine) ainsi qu'à la fraction δ qui est liée très fortement à l'albumine ; la bilirubine α , non conjuguée ou bilirubine indirecte, qui est transportée par l'albumine. La bilirubine totale (BT) est la somme de ces différentes formes.

PRINCIPE (4) (5)

Réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté qui conduit à un composé, l'azobilirubine, coloré en milieu très acide ou basique.

Principe de Malloy-Evelyn modifié par Walters et al : en solution aqueuse, seule la BD réagit. Pour doser la BT il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine. Cette étape est réalisée par l'addition de diméthyl sulfoxyde (DMSO).

L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 550 nm (530-580).

REACTIFS

R1 BILIRUBINE TOTALE

Acide sulfanilique 30 mmol/L
DMSO 7 mol/L
Acide chlorhydrique 130 mmol/L

EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande
EUH208 : Contient de l'acide sulfanilique (substance sensibilisante).
Peut produire une réaction allergique

R2 BILIRUBINE DIRECTE

Acide sulfanilique 30 mmol/L
Acide chlorhydrique 130 mmol/L

EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande
EUH208 : Contient de l'acide sulfanilique (substance sensibilisante).
Peut produire une réaction allergique

R3 BILIRUBINE TOTALE ET DIRECTE

Nitrite de sodium 0,74 mmol/L

Ces réactifs ne sont pas classés comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

I Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

Prêts à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant et après ouverture (en l'absence de contamination) :

- les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.
- Ne pas utiliser les réactifs troubles ou si Abs à 550 nm > 0.100.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (7)

Sérum ou plasma (non hémolysés).

La bilirubine est photolabile. Stocker le spécimen à l'abri de la lumière.

- Stabilité dans le spécimen : 4 à 7 jours à 2-8°C.
2 jours à température ambiante.

LIMITES (3)

La réaction de formation de la diazobilirubine est sensible aux variations de température et doit être menée à température constante. Young D.S. a publié une liste de substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie

Fabricant	Date de péremption	In vitro diagnostic	Température de conservation	Eau déminéralisée	Risque biologique
Référence Produit	Consulter la notice	Numéro de lot	Stocker à l'abri de la lumière	Suffisant pour	diluer avec

CALIBRATION (8)

- Facteur indiqué § CALCUL ou
- REF 95015 Multicalibrator traçable sur Master lot interne (raccordé sur SRM 916).

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Bilirubine totale	(mg/L)		[µmol/L]	
Nouveau-né	Prématuré	à terme	Prématuré	à terme
Dans le cordon	< 20	< 20	[< 34]	[< 34]
0-1 jour	< 80	14-87	[< 137]	[24-149]
1-2 jours	< 120	34-115	[< 205]	[58-197]
3-5 jours	< 160	15-120	[< 274]	[26-205]

Adulte (et enfant > 5 jours)	Bilirubine totale		Bilirubine directe	
	mg/L	[µmol/L]	mg/L	[µmol/L]
> 5 jours-60 ans	3-12	[5-21]	< 2	[< 3.4]
60-90 ans	2-11	[3-19]	< 2	[< 3.4]
> 90 ans	2-9	[3-15]	< 2	[< 3.4]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Sur KENZA 240TX à 546 nm, 37°C

Domaine de mesure :

BT : entre 4,5 et 200 mg/L, BD : entre 6,0 et 80 mg/L

Limite de détection :

BT : environ 2,8 mg/L, BD : environ 0,1 mg/L

Précision BT :

Intra-série N=20	Taux 1	Taux 2	Taux 3	Inter-série N=20	Taux 1	Taux 2	Taux 3
Moyenne mg/L	10,6	31,4	141,4	Moyenne mg/L	10,3	31,5	137,3
S.D. mg/L	0,3	0,6	1,2	S.D. mg/L	0,5	1,0	3,7
C.V. %	2,5	2,0	0,9	C.V. %	4,9	3,3	2,7

Précision BD :

Intra-série N=20	Taux 1	Taux 2	Taux 3	Inter-série N=20	Taux 1	Taux 2	Taux 3
Moyenne mg/L	7,6	11,0	20,6	Moyenne mg/L	7,4	10,8	20,1
S.D. mg/L	0,2	0,2	0,3	S.D. mg/L	0,2	0,4	0,5
C.V. %	2,8	2,2	1,3	C.V. %	2,6	3,5	2,5

Sensibilité analytique :

BT : approx. 0.0853 abs pour 10 mg/L

BD : approx. 0.0819 abs pour 10 mg/L

Comparaison avec réactif du commerce :

BT : Evaluation clinique (n=96) de 3,1 et 92,6 mg/L

$y = 0,9446x - 0,0546$ $r = 0,9960$

BD : Etude réalisée sur sérums humains (n=92) entre 1 et 74 mg/L

$y = 0,9981x - 0,001$ $r = 0,9975$

Interférences :	Bilirubine totale	Bilirubine directe
Turbidité	Interférence négative à partir de 0,052 abs	Interférence négative à partir de 0,067 abs
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Hémoglobine	Pas d'interférence jusqu'à 385 µmol/L	Interférence négative à partir de 57 µmol/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 10,6 g/L	Pas d'interférence jusqu'à 10,6 g/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : les réactifs séparés sont stables 60 jours

Fréquence de calibration : 60 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

Les résultats avec la méthode pédiatrique sont disponibles sur demande

CONTRÔLE DE QUALITE

- REF 95010 EXATROL-N Taux 1
- REF 95011 EXATROL-P Taux 2
- Programme externe de contrôle de la qualité

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série
 - Au moins un contrôle par 24 heures
 - Changement de flacon de réactif
 - Après opération de maintenance sur l'analyseur
- Si une valeur de contrôle es hors limites :
- Répéter le test en utilisant le même contrôle
 - Si la valeur reste hors limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test
 - Avec facteur** : Vérifier les paramètres de l'analyse : longueur d'onde, température, volume spécimen/volume réactif, temps de mesure et facteur de calibration
 - Utiliser un autre flacon de réactif et répéter le test
 - Avec calibrant** : Si la valeur reste hors limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test
 - Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test
 - Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

METHODE MANUELLE

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

	Essai	Blanc
Réactif R1 (BT) ou R2 (BD)	1000 µL	1000 µL
Eau distillée		50 µL
Réactif R3	50 µL	
Mélanger et ajouter		
Spécimen, calibrant, contrôle	100 µL	100 µL
Faire le zéro sur de l'eau distillée et bien égoutter la cuve. Lire d'abord tous les blancs d'une série puis tous les essais en vidant bien la cuve entre chaque tube, mais SANS RINCER A L'EAU pour éviter des stries. Bien mélanger et déclencher un chronomètre lors de l'addition du spécimen. Lire les absorbances à 550 nm (530-580) contre les blancs BT : ≥ 3 minutes à 37°C ou ≥ 5 minutes à température ambiante. BD : à exactement 3 min. à 37°C ou 5 minutes à température ambiante.		

- Les performances en technique manuelle seront établies par l'utilisateur.
- Les applications KENZA et d'autres propositions d'applications sont disponibles sur demande.
- Spécimen pédiatrique : diviser le volume échantillon par 5

CALCUL

Avec Multicalibrateur sérique:

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Essai - Blanc) dosage}}{\text{Abs (Essai - Blanc) calibrant}} \times \text{concentration du calibrant}$$

Avec Facteur (1 cm de trajet optique, 37°C, 550 nm)

$$\text{mg/L} = [\text{Abs. essai} - \text{Abs. Blanc}] \times 114^*$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. essai} - \text{Abs. Blanc}] \times 195^*$$

Méthode pédiatrique: multiplier le facteur par 5 (volume échantillon)

* Facteurs donnés à titre indicatif.

REFERENCES

- TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1133-1137.
- Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 172-177
- YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p.3-90 à 3-110
- MALLOY H.T., EVELYN K., J Biol. Chem.(1937), 119, p.481-490
- WALTERS M, GERARDE H, Microchem J (1970) 15, p.231-243
- BERNARD S., Biochimie clinique, 2^{ème} éd. Maloine, (1989), p.127-129 et p.280-282.
- Henry RJ, Clin Chem : Principles and technics. Harper and Row,p.592 (1965)
- SRM: Standard Reference Material ®