

## Bilirubine – (TOTALE ET DIRECTE)

Bilirubine – (TOTALE ET DIRECTE)  
Jendrassik Grof

REF :BIL-MC-0265 (265ml)

## Utilisation

Le réactif Bilirubine de NS BIOTEC est conçu pour la détermination diagnostic et quantitative in-vitro de la bilirubine dans le sérum humain sur des systèmes automatisés et manuels.

## Rappel

Le taux normal de bilirubine provenant de différentes sources chez les humains varie entre 250-300 mg/jour. De ce taux, 85% est dérivé de la fraction hème de l'hémoglobine qui est libérée par les érythrocytes sénescents détruits par le système réticuloendothélial. Quant au 15% restants, ils proviennent de la destruction des érythrocytes dans la moelle osseuse et du catabolisme d'autres protéines contenant le groupe hème, tels que la myoglobine et les cytochromes.

Après sa formation dans les tissus périphériques, la bilirubine est transportée par l'albumine jusqu'au foie. Une fois là-bas, la bilirubine est conjuguée à l'acide glucuronique pour être soluble et ainsi transportable dans la voie biliaire et éliminable par le tube digestif. Les maladies ou conditions qui à travers le processus hémolytique produisent de la bilirubine plus rapidement que le foie peut le métaboliser engendrent une élévation du taux de bilirubine non conjugué (indirecte) dans la circulation. Des obstructions de la voie biliaire ou une détérioration de la structure hépatocellulaire causent une élévation de la bilirubine conjuguée (directe) et non-conjuguée (indirecte) dans la circulation.

## Méthode

Méthode colorimétrique, Diazo.

## Principe de la méthode

La concentration de bilirubine totale est déterminée en présence de caféine en réagissant avec de l'acide sulfanilique diazoté pour produire une couleur azoïque intense (560-600nm). L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine totale.

La bilirubine directe est déterminée en absence de caféine par la réaction directe avec l'acide sulfanilique diazoté pour former un azobilirubine de couleur rouge, dont l'intensité de la couleur est mesurée à 546 nm et est aussi proportionnel à la concentration de bilirubine directe dans l'échantillon.

Acide sulfanilique + NaNO<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{HCl}}$  acide sulfanilique diazoté

Bilirubine + acide sulfanilique diazoté  $\xrightarrow{\text{pH 1.4}}$  azobilirubine

## Réactifs

## Réactif 1 (R1)

Acide sulfanilique 31.0 mmol/L  
HCL 0.20 N

## Réactif 2 (R2)

Nitrite de sodium 28.0 mol/L

## Réactif 3 (R3) D-Bilirubine

Caféine 0.28 mol/L

Benzoate de sodium 0.55 mol/L

## Réactif 4 (R3)

Tartrate 0.99 mol/L

Hydroxyde de sodium 2.0 N

**Réactif 4 est formé de substances corrosives.**

Pour plus d'informations, se référer à la fiche de données de sécurité du réactif bilirubine.

## Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

## Préparation du réactif, stockage et stabilité

Les réactif Bilirubine sont fournis prêts à l'emploi et sont stable, quand stockés à température ambiante, jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur l'emballage. Une fois ouvert, le réactif est stable durant 6 mois à la température indiquée, si contamination a été évitée.

## Détérioration

Ne pas utiliser le réactif si du précipité s'est formé. L'incapacité à obtenir des résultats de contrôles dans l'intervalle recommandé peut être un signe de la détérioration du réactif.

## Collecte et conservation des échantillons

Éviter d'exposer l'échantillon à la lumière. Si du plasma est utilisé, héparine et oxalate seulement peuvent être utilisés. Les autres anticoagulants ne sont pas à utiliser. La demi-vie moyenne de la bilirubine totale et de la bilirubine directe dans le sérum est de 17 jours et de quelques heures, respectivement.

## Stabilité :

	-20°C	4-8°C	20-25°C
Totale	6 mois	7 jours	1 jour
Directe	6 mois	7 jours	2 jours

## Procédure

## Bilirubine totale

	Blanc	Échantillon
Réactif 1	200 µl	200 µl
Réactif 2	-----	1 goutte
Réactif 3	1.0 ml	1.0 ml
Échantillon	200 µl	200 µl
Mélanger et incuber pendant 10 minutes à 20-25 °C, puis ajouter :		
Réactif 4	1.0 ml	1.0 ml

Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 20-25 °C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon (A<sub>échantillon</sub>) contre le blanc du réactif à 578 nm (560-600 nm). L'intensité de la couleur est stable durant 30 minutes.

## Bilirubine directe

	Blanc	Échantillon
Réactif 1	200 µl	200 µl
Réactif 2	-----	1 goutte
Sol. saline NaCl 0.9%	2.0 ml	2.0 ml
Échantillon	200 µl	200 µl

Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 20-25 °C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon (A<sub>échantillon</sub>) contre le blanc du réactif à 546 nm (530-560 nm).

## Calcul

Bilirubine totale (mg/dL) = A<sub>échantillon</sub> x 10.8

Bilirubine directe (mg/dL) = A<sub>échantillon</sub> x 14.4

## Contrôle de qualité

Des contrôles de sérum commerciaux dont les concentrations sont connus, aussi bien normal qu'anormal, devraient être réalisés avec chaque test.

## Performance de la méthode

### Précision

Intra-série (répétabilité)

	Totale		Directe	
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20	20	20
Moyenne (mg/dL)	0.79	4.37	0.299	0.77
SD	0.016	0.18	0.016	0.057
CV%	2.13	4.12	5.41	7.4

Inter série (reproductibilité)

	Totale		Directe	
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20	20	20
Moyenne (mg/dL)	0.82	4.52	0.32	0.82
SD	0.02	0.27	0.023	0.062
CV%	2.24	4.21	5.57	8.1

## Méthode de comparaison

Une comparaison entre le réactif Bilirubine de NS BIOTEC et un réactif commercial, suivant la même méthodologie, a été réalisée sur 20 sérums humains. Une corrélation de 0.975 a été obtenue.

## Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection est de 0.1 mg/dL (1.7 µmol/L) pour bilirubine totale et directe.

## Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration de bilirubine totale de 30 mg/dL (513 µmol/L) et une concentration de la bilirubine directe de 10 mg/dL (171 µmol/L). Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués : 1V+4V en utilisant une solution physiologique saline. Répéter l'essai et multiplier le résultat par 5.

## Interférences : Sérum, plasma

## Hémolyse

Éviter l'hémolyse car elle interfère avec le test.

## Lipémie

Les échantillons lipidiques interfèrent avec le test.

## Médicaments

Théophylline et propranolol peuvent causer une baisse artificielle du taux de bilirubine totale.

## Valeurs recommandées

### Bilirubine totale

Adultes et enfants <0.2-1.0 mg/dL (3.4-17 µmol/L)

> 1mois

Nouveau-nés et 10-14 mg/dL (171-239 µmol/L)

prématurés

### Nouveau-nés

3-5 jours 4.0-8.0 mg/dL (68-137 µmol/L)

<48 h 6.0-10.0 mg/dL (103-171 µmol/L)

<24 h 2.0-6.0 mg/dL (34-103 µmol/L)

**Bilirubine** 0-0.3 mg/dL (0-51 µmol/L)

**directe**

**NS BIOTEC n'interprète pas les résultats de procédures de laboratoire clinique ; l'interprétation des résultats est considérée la responsabilité d'un personnel médical qualifié. Toutes les informations ayant une importance clinique sont appuyées sur des références scientifiques.**

## Intervalle analytique

Bilirubine totale : 0.1-30 mg/dL (1.7-513 µmol/L)  
Bilirubine directe : 0.1-10 mg/dL (1.7-171 µmol/L)

## Traitement des déchets

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

**S56** : Éliminer ce matériel et son emballage dans un contenant de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

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

**S61** : Éviter toute élimination dans la nature ; se référer aux fiches de sécurité.

## Références

1. Balistreri WF, Shaw LM. Liver function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1987:729-761.

2. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimetric method. J Biol Chem. 1937;119:481-490.

3. Tietz NW, ed. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995:268-273.

 <p>NS BIOTEC MEDICAL EQUIPMENT</p> <p>66 Port Said St., Camp Shezar Alexandria – Egypt Tele: 002 03 592 0902 Fax : 002 03 592 0908 Website: <a href="http://www.nsbiotec.com">www.nsbiotec.com</a> E-mail : <a href="mailto:info@nsbiotec.com">info@nsbiotec.com</a></p>	  <p>CMC Medical Devices &amp; Drugs S.L. C/ Horacio Lengo, 18. 29006. Málaga, Spain</p>
--	---