

Bilirubine Jendrassik-Gróf FS*

Pour in vitro détermination de la Bilirubine directe et totale selon la méthode Jendrassik-Gróf sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Emballage coffret
1 0849 99 90 336	<ul style="list-style-type: none"> ① 1 x 90 mL Réactif 1 Acide sulfanilique ② 1 x 25 mL Réactif 2 Nitrite de sodium ③ 2 x 100 mL Réactif 3 Accélérateur ④ 2 x 100 mL Réactif 4 Liqueur de Fehling II

Principe

La bilirubine forme avec l'acide sulfanilique diazotée un colorant azoïque qui est rouge en solution neutre et bleu en milieu alcalin. Alors que le glucuronide de bilirubine hydrosoluble réagit « directement », la bilirubine « indirecte » libre ne réagit qu'en présence d'un accélérateur.

La bilirubine totale sérique ou plasmatique est dosée selon Jendrassik et Gróf par copulation avec l'acide sulfanilique diazotée après addition de caféine, de benzoate de sodium et d'acétate de sodium. Par addition de la liqueur de Fehling II alcaline, une bilirubine azoïque bleue se forme dont la teneur peut être déterminée sélectivement par photométrie à 578 nm, même en présence de produits secondaires jaunes (coloration intermédiaire verte). Selon Schellong et Wende la bilirubine directe est mesurée sous forme d'un colorant azoïque rouge à 546 nm sans l'addition d'un alcali.

La bilirubine indirecte se calcule à partir de la différence entre la bilirubine totale et la bilirubine directe.

Réactifs

Concentration de réactif

R1 :	Acide sulfanilique	29 mmol/L
	HCl	170 mmol/L
R2 :	Nitrite de sodium	29 mmol/L
R3 :	Caféine	130 mmol/L
	Benzoate de sodium	156 mmol/L
	Acétate de sodium	460 mmol/L
R4 :	Liqueur de Fehling II :	
	Tartrate de potassium	930 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	1,9 mol/L

Stockage et stabilité des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +15 °C et +25 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs !

Avertissements et précautions d'emploi

- Réactif 1 : Attention. H290 Peut être corrosif pour les métaux. P234 Conserver uniquement dans le récipient d'origine. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P390 Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants.
- Réactif 4 Danger. H290 Peut être corrosif pour les métaux. H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. P234 Conserver uniquement dans le récipient d'origine. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301+P330+P331 En cas d'ingestion : rincer la bouche. Ne pas faire vomir. P303+P361+P353 En cas de contact avec la peau (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. P305+P351+P338 En cas de contact avec les yeux : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P304+P340 En cas d'inhalation : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. P310 Appeler immédiatement un centre antipoison ou un médecin. P390 Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants.

- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [7].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel !

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation de réactif

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériels requis mais non fournis

NaCl-Solution 9 g/L
Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum

Il est très important de conserver le spécimen à l'abri de la lumière !
Stabilité [5] :

Bilirubine directe :	2 jours	entre	+20 et +25 °C
	7 mois	entre	+4 et +8 °C
	6 mois	à	-20 °C

en cas de congélation immédiate. Congélation unique !

Bilirubine totale :	1 jour	entre	+20 et +25 °C
	7 jours	entre	+4 et +8 °C
	6 mois	à	-20 °C

en cas de congélation immédiate. Congélation unique !

Éliminer les échantillons contaminés !

Mode opératoire

Trajet optique :	1 cm
Température :	Entre +15 et +25 °C
Mesure :	Contre le blanc d'échantillon

Détermination de la bilirubine totale

(cf. remarque 1)

Longueur d'onde : Hg 578 nm

	Blanc d'échantillon	Echantillon
Réactif 2	-	50 µL
Réactif 1	200 µL	200 µL
Réactif 3	1000 µL	1000 µL
Échantillon	200 µL	200 µL
Mélanger, laisser reposer entre +15 et +25 °C pendant 10 à 60 minutes, puis ajouter :		
Réactif 4	1000 µL	1000 µL
Mélanger et mesurer les absorbances du dosage par rapport au blanc d'échantillon après 5 à 30 minutes.		

Calcul

Concentration en bilirubine totale : $[\text{mg/dL}] = A \times 10,5$
 $[\mu\text{mol/L}] = A \times 180$

Détermination de la bilirubine directe

(cf. remarques 1 et 2)

Longueur d'onde : Hg 546 nm

	Blanc d'échantillon	Echantillon
Réactif 2	-	50 µL
Réactif 1	200 µL	200 µL
Solution NaCl	2000 µL	2000 µL
Échantillon	200 µL	200 µL

Mélanger immédiatement, laisser reposer entre +15 et +25 °C et, exactement 5 minutes après l'addition du sérum, mesurer les densités optiques des échantillons par rapport au blanc d'échantillon.

Calcul

Concentration en bilirubine directe : $[mg/dL] = A \times 14,0$
 $[\mu mol/L] = A \times 240$

Remarques pour l'emploi manuel

1. Lorsqu'il s'agit de plus grandes séries, 4 parties en volume d'acide sulfanilique ❶ et 1 partie en volume de nitrite de sodium ❷ peuvent être mélangées préalablement. Pour l'analyse - à l'aide d'une pipette - ajouter au dosage 200 µL de cette solution de diazotation à la place de l'acide sulfanilique et du nitrite de sodium. A une température de +15 à +25 °C, la solution est utilisable pendant 2 heures.

Dans ce cas, les facteurs de calcul sont les suivants :

Pour la bilirubine totale : $= A \times 10,3 \text{ mg/dL}$
 $177 \mu mol/L$

Pour la bilirubine directe : $= A \times 13,7 \text{ mg/dL}$
 $235 \mu mol/L$

2. Il est également possible de mesurer la bilirubine directe à 578 nm. A cet effet, ajouter à l'échantillon et au blanc d'échantillon seulement 1000 µL d'une solution physiologique de NaCl et, 5 minutes après l'addition du sérum, chaque fois 1000 µL de la liqueur de Fehling II ❸; mélanger et après 5 minutes, mesurer les densités optiques des échantillons par rapport à l'essai à blanc à 578 nm et à 1 cm de trajet optique. Dans ce cas, les formules de calcul sont les suivantes :

Concentration en bilirubine directe = $= A \times 10,5 [mg/dL]$
 $= A \times 180 [\mu mol/L]$

Contrôles

Pour le contrôle de qualité interne, les contrôles DiaSys TruLab N et P devraient être utilisés. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Performance**Domaine de mesure**

Le test a été développé pour la détermination des concentrations de bilirubine dans un domaine de mesure compris entre 0,3 et 100 mg/L. Au-delà de cet intervalle, diluer l'échantillon 1 + 1 avec de la solution NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 2.

Spécificité/Interférences

Aucune perturbation n'a été observée dans la bilirubine totale par la présence de lipémie jusqu'à 8 g/L de triglycérides, de naproxène jusqu'à 0,4 mmol/L et de l'hémoglobine jusqu'à 4 g/L. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [6].

Limite de détection

La limite de détection analytique est de 0,3 mg/L.

Etude de précision Bilirubine directe

Intra série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	3,3	0,0	1,44
Echantillon 2	7,1	0,1	0,93
Echantillon 3	1,5	0,0	3,00

Inter série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	7,7	0,2	2,47
Echantillon 2	19,9	0,6	2,82
Echantillon 3	34,4	1,3	3,64

Etude de précision Bilirubine totale

Intra série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	3,5	0,1	2,15
Echantillon 2	17,9	0,1	0,45
Echantillon 3	38,6	0,3	0,79

Inter série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	13,7	0,5	3,32
Echantillon 2	7,6	0,3	3,33
Echantillon 3	59,6	0,9	1,43

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la Bilirubine Totale FS de DiaSys selon Jendrassik-Gróf (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 38 échantillons, a donné les résultats suivants :

$y = 1,01 x - 0,8 \text{ mg/L}$;

Coefficient de corrélation : $r = 0,999$

Une comparaison de la Bilirubine Directe FS de DiaSys selon Jendrassik-Gróf (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 27 échantillons, a donné les résultats suivants :

$y = 0,98 x - 0,1 \text{ mg/L}$;

Coefficient de corrélation : $r = 0,991$

Valeurs usuelles [1]**Bilirubine totale**

Nouveau-né	24 h	< 88 mg /L	< 150 µmol/L
	2 ^e jour	13 – 113 mg /L	22 – 193 µmol/L
	3 ^e jour	7 – 127 mg /L	12 – 217 µmol/L
	4 ^e – 6 ^e jours	1 – 126 mg /L	1,7 – 216 µmol/L
Enfants	>1 mois	2 – 10 mg /L	3,4 – 17 µmol/L
Adultes		1 – 12 mg /L	1,7 – 21 µmol/L

Bilirubine directe



Adultes et enfants $\leq 2 \text{ mg /L}$ $3,4 \mu mol/L$

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références bibliographiques

1. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Jendrassik L, Gróf P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. Biochem Zeitschrift 1938;297:82-9.
4. Schellong G, Wende U. Mikromethode zur Bestimmung des Serumbilirubins aus Kapillarblut bei Neugeborenen. Arch Kinderheilkunde 1960;162:126-35.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 18-9.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 200.
7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Fabriqué par

  DiaSys Diagnostic Systems GmbH
 Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne

Importateur en France

DiaSys Distribution France Sarl
 Cap Gamma
 ZAC Euromédecine II
 1682, Rue de la Valsière
 34790 GRABELS