

Total bile acids 21 FS* (Acides biliaires totaux 21 FS*)

Présentation

Référence 1 2238 99 10 930
Composition du kit R1 4 x 12 mL + R2 2 x 8 mL

Emploi Prévu

Réactif pour les dosages quantitatifs in vitro des acides biliaires totaux sur systèmes photométriques

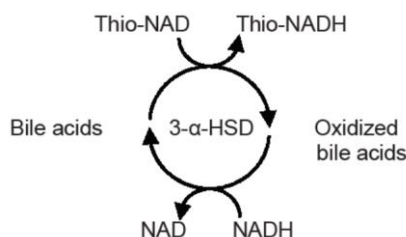
Intérêt Clinique

Les acides biliaires (AB) sont des produits finis hydrosolubles et amphipathiques du métabolisme du cholestérol. Ils sont formés dans le foie, stockés dans la vésicule biliaire et sécrétés dans l'intestin pendant la digestion [1,2]. Au cours de ce processus métabolique, les AB passent de la forme primaire à la forme tertiaire et leurs conjugués. Les acides biliaires totaux (ABT) représentent la somme de toutes ces formes. Ils sont un marqueur sensible de la fonction hépatique : synthèse hépatique, sécrétion et réabsorption [2,3]. Comparé aux tests conventionnels de dépistage hépatique tels que l'ALT ou l'AST, qui indiquent une atteinte hépatique aiguë, la détermination des acides biliaires totaux permet une détection précoce des troubles hépatiques et donc un traitement précoce et la prévention des lésions hépatiques irréversibles majeures. Chez les patients atteints d'une maladie hépatique, les ABT sériques peuvent être utilisés pour surveiller le succès du traitement [4-6]. Bien que les concentrations des ABT permettent un diagnostic précoce des déficiences hépatobiliaires, elles ne permettent pas de distinguer les différentes maladies. Des taux accrus des ABT sont associés à des maladies telles que l'hépatite aiguë et chronique, les cholestases de grossesses intra hépatiques, la sclérose hépatique, la cirrhose et le cancer [2-9]. La détermination des concentrations des ABT chez les femmes enceintes est considérée comme le biomarqueur le plus important pour le diagnostic et la surveillance du cholestase intra-hépatique, également connu sous le nom de cholestase gravidique [10-12]. La cholestase gravidique intra hépatique est la maladie du foie la plus courante qui survient pendant la grossesse, habituellement au cours des trois derniers mois de la grossesse. Elle est causée par un trouble de la sécrétion biliaire hormonale réversible qui provoque une restriction de l'écoulement de la bile dans la vésicule biliaire, ce qui entraîne à son tour une accumulation d'acides biliaires dans le foie et éventuellement dans le sang [7,13]. La cholestase gravidique est caractérisée par des démangeaisons sévères (prurit)[11]. Au cours d'une cholestase gravidique, les concentrations d'ABT peuvent atteindre 220 µmol/L[12], ce qui entraîne un risque accru de détresse fœtale, de naissance prématurée ou même de mortinaissance. Des concentrations supérieures à 40 µmol/L peuvent être fœtotoxiques[11]. De faibles concentrations d'ABT sont associées aux troubles iléaux, à la malabsorption, à la diarrhée ou à la maladie de Crohn. Dans le domaine vétérinaire, les mesures des acides biliaires totales dans le sérum sont également une pratique courante. [1-12]

Méthode

Méthode du cycle enzymatique

La nouvelle méthode de cyclage enzymatique combine deux étapes de réaction. En présence de thio-NAD, l'enzyme 3- α -hydroxy stéroïde déshydrogénase (3- α -HSD) transforme les acides biliaires en 3 cétostéroïdes et thio-NADH. La réaction est réversible. Le 3- α -HSD peut donc convertir les 3-cétostéroïdes et le thio-NADH en acides biliaires et en thio-NADH. En présence d'un excès de NADH, les cycles enzymatiques sont efficaces et le taux de formation de thio-NADH est déterminé en mesurant le changement d'absorbance spécifique à 405 nm. Cette réaction cyclique entraîne une amplification significative du signal [14].



Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	Tampon	
	Thio-NAD	> 0,1 mmol/L
R2 :	Tampon	
	3- α -HSD	> 2 KU/L

Conservation et Stabilité des Réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs et les conserver à l'abri de la lumière.

Les réactifs sont sensible à la température. Respecter le maintien de la chaîne de froid dans le laboratoire.

Avertissements et Précautions d'Emploi

1. Le réactif 2 contient de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Eviter le contact avec la peau et les muqueuses.
2. Les concentrations d'acides biliaires totaux dans le sérum post-prandial sont généralement plus élevées que les concentrations des acides biliaires totaux dans le sérum à jeun. Par conséquent, des échantillons à jeun devraient être utilisés pour la détermination des acides biliaires [3].
3. Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent conduire à des résultats faussés [15].
4. 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.
5. Uniquement à usage professionnel.

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation du Réactif

Le réactif est prêt à l'emploi.

Matériels Nécessaires

Equipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum (du sang à jeun > 12h)

Les échantillons prélevés chez des patients traités par des analogues des acides biliaires comme l'acide fusidique, l'acide ursodésoxycholique ou l'acide oébéticholique ne conviennent pas à l'analyse [19].

Stabilité :		
1 jour	à	20 - 25°C
1 semaine	à	2 - 8°C
1 an	à	-20°C

Une seule congélation. Eliminer les échantillons contaminés.

Mode Opérateur

Des applications adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	405 nm / 600 nm (bichromatique)
Trajet optique	1 cm
Température	+37 °C
Mesure	Contre blanc de réactif

	Blanc	Echant./ Calibrant
Échantillon/Calibrant	-	4 µL
Eau distillée	4 µL	-
Réactif 1	270 µL	270 µL
Mélanger, incubé 5 minutes à +37 °C, puis ajouter :		
Réactif 2	90 µL	90 µL
Mélanger et lire l'absorbance après 1 minute et démarrer le chronomètre. Lire l'absorbance à nouveau après 1 et après 2 minutes.		

$\Delta A/\text{Min.} = (\Delta A/\text{Min. Echant./Calibrant} - \Delta A/\text{Min. blanc de réactif})$

Calcul

Avec calibrant

$$\text{Acides biliaires totaux } [\mu\text{mol/L}] = \frac{\Delta A/\text{min. Échant.}}{\Delta A/\text{min. Cal}} \times \text{Conc. Cal } [\mu\text{mol/L}]$$

Calibrants et Contrôles

TruCal TBA de DiaSys est recommandé pour la calibration. Les valeurs de ce calibrant sont établies par rapport à un procédé de test commercial. Utiliser TruLab N et P de DiaSys pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Présentation
TruCal TBA	1 2240 99 10 037	3 x 1 mL
TruLab N	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL
	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL

Performances

Données évaluées sur BioMajesty® JCA-BM6010/C

Les données exemplaires citées en bas peuvent varier légèrement en cas de conditions de mesure déviantes.

Domaine de mesure jusqu'à 220 µmol/L. Au delà de cet intervalle, diluer le spécimen 1 + 5 avec du NACL (9 g/L) et multiplier le résultat par 6.	
Limite de détection **	2 µmol/L

Substance interférente	Interférences ≤ 10 % jusqu'à	Acides biliaires totaux [µmol/L]
Acide ascorbique	100 mg/dL	8,56
	100 mg/dL	23,3
Bilirubine conjuguée	60 mg/dL	8,18
	60 mg/dL	24,4
Bilirubine non conjuguée	60 mg/dL	8,73
	60 mg/dL	25,0
Hémoglobine	400 mg/dL	7,78
	800 mg/dL	25,1
Lipémie (Triglycérides)	700 mg/dL	8,25
	2000 mg/dL	26,4
Sulfapyridine	350 mg/L	8,42
	350 mg/L	25,5
Sulfasalazine	350 mg/L	7,08
	350 mg/L	24,4
Témozolomide	30 mg/L	7,82
	30 mg/L	25,3

Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS. [16]

Précision			
Intra série (n=20)	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3
Moyenne [µmol/L]	5,41	10,2	199
CV [%]	2,38	0,83	0,60
Inter série (n=20)	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3
Moyenne [µmol/L]	5,39	10,4	201
CV [%]	1,42	1,54	0,82

Comparaison de méthodes (n=100)	
Test x	Acides biliaires totaux concurrent
Test y	Acides biliaires totaux 21 FS de DiaSys
Pente	1,025
Ordonnée à l'origine	0,284 µmol/L
Coefficient de corrélation	r = 0,9965

** selon CLSI document EP17-A2, Vol. 32, No. 8

Valeurs Usuelles

< 10 µmol/L (à jeun)

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

- Stamp D and Jenkins G. An overview of bile- acid synthesis, chemistry and function. In Bile Acids: Toxicology and Bioactivity eds. Jenkins G. and Hardie LJ. Royal Society of Chemistry. 2008.
- Hofmann AF. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. Arch. Intern. Med. 1999;159:2647–2658
- Dufour DR. Liver Disease. In: Burtis CA, Ashwood ER, and Bruns DE eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.2006. p. 1782–1787.
- Shima, T et al. Serum total bile acid level as a sensitive indicator of hepatic histological improvement in chronic hepatitis C patients responding to interferon treatment. J. gastroenterol. Hepatol. 2000;15: 294-299
- Barnes S et al. Diagnostic value of serum bile acid estimations in liver disease. J Clin Pathol. 1975;28(6):506-9.
- Skrede S et al. Bile acids measured in serum during fasting as a test for liver disease. Clinical Chemistry.1978;24(7) 1095-1099.

7. Pataia V, Dixon PH and Williamson C. Pregnancy and bile acid disorders. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2017;313(1): G1–G6
8. Neale G et al. Serum bile acids in liver disease. *Gut.* 1971; 12, 145-152.
9. Charach G et al. Diminished bile acids excretion is a risk factor for coronary artery disease: 20-year follow up and long-term outcome. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2017;11, 1-11.
10. Egan N et al. Reference standard for serum bile acids in pregnancy. *BJOG* 2012;119:493–498.
11. Glantz A, Marschall HU and Mattson LA. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology* 2004;40:467–74.
12. Brites D. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: changes in maternal-fetal bile acid balance and improvement by ursodeoxycholic acid. *Ann. Hepatol.* 2002;1:20–28
13. Ozkan S, Ceylan Y, Ozkan OV, Yildirim S. Review of a challenging clinical issue: Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *World J Gastroenterol.* 2015;21(23):7134–41
14. Zhang GH et al. An enzymatic cycling method for the determination of serum total bile acids with recombinant 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase. *Biochemical and biophysical research communications.* 2005;326: 87–92
15. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *ClinChemLabMed* 2007;45(9):1240-1243
16. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests.* 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
17. Luo L et al. Assessment of serum bile acid profiles as biomarkers of liver injury and liver disease in humans. *PLoS One.* 2018;13(3).
18. Jahnel J et al. Reference ranges of serum bile acids in children and adolescents. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2015;53(11) 1807-13.
19. Brown RS. Use of Obeticholic Acid in Patients With Primary Biliary Cholangitis. *Gastroenterol Hepatol.* 2018;14(11):654-657.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Liquide & Stable