

Mise au point du dosage de la Bilirubine Non Liée à l'Albumine (BNL) sur le Synchron CX4-CE[®] et le DxC 800[®] de Beckman Coulter

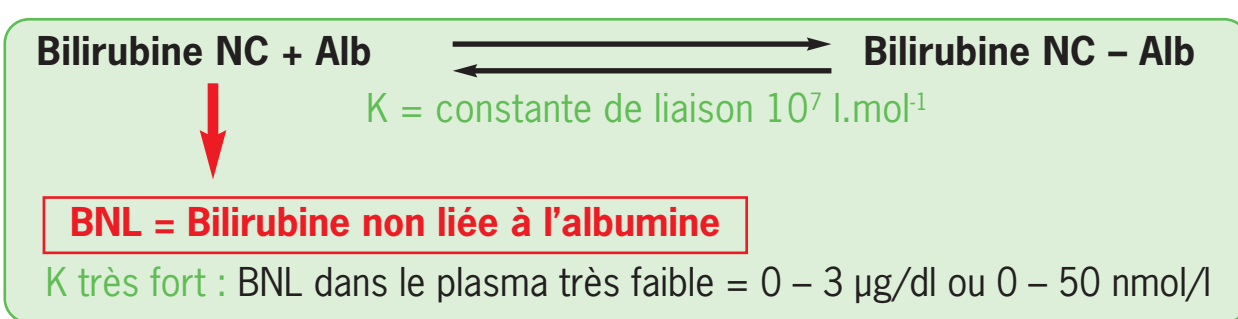
A. Mailloux¹, B. Crayon², A. Cortey¹, M. Larsen¹, Y. Brossard¹

¹ CNRHP, hôpital St Antoine, APHP, Paris, ² Beckman Coulter

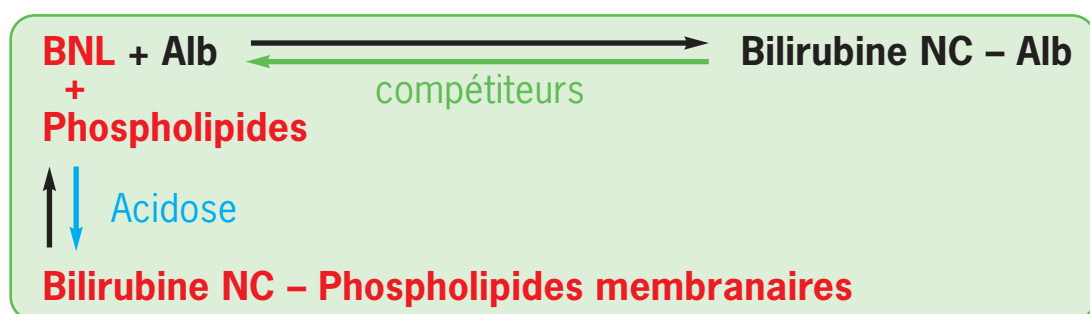
Introduction

L'ictère à bilirubine non conjuguée est un problème quotidien en maternité puisqu'il est présent chez environ 2/3 des nouveaux-nés. Il est le plus souvent bénin et réversible spontanément. Cependant, dans un certain nombre de cas, l'hyperbilirubinémie peut être à l'origine d'une encéphalopathie séquellaire (ictère nucléaire). L'hyperbilirubinémie libre n'est pas le seul facteur biologique associé au risque d'ictère nucléaire, des facteurs cliniques et biologiques ont été identifiés comme aggravant ce risque.

• Dans le plasma, l'albumine est le principal transporteur de bilirubine. Il existe un site principal de fixation (sites secondaires d'affinité plus faibles), site non spécifique ouvert à de nombreux compétiteurs endogènes et exogènes. In vivo, la BNL ne peut être déduite du rapport Bilirubine NC/Alb.



• L'exploration de la liaison de la bilirubine-albumine prend en compte 3 facteurs biologiques de risque d'ictère nucléaire : l'hyperbilirubinémie, l'hypoalbuminémie, la présence de compétiteurs (hème, acide gras, médicaments).

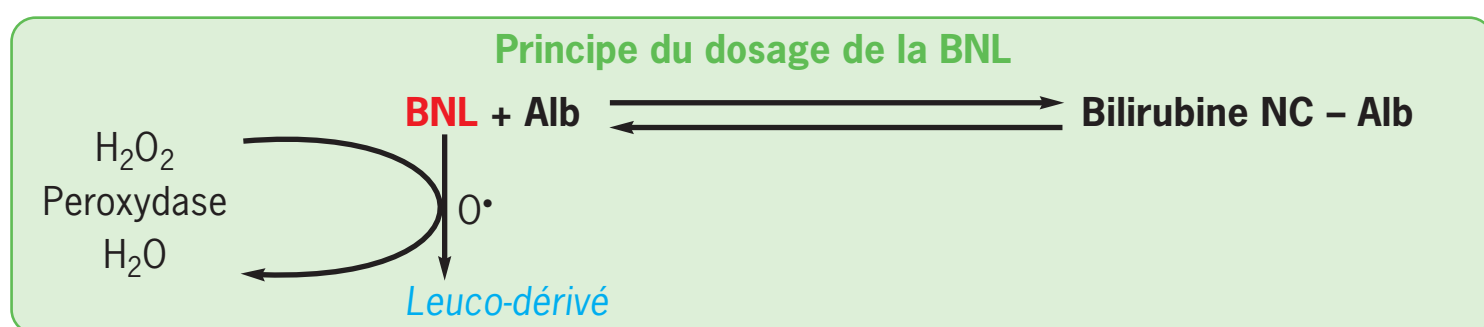


• Le dosage de la BNL permet donc d'identifier des situations à risque mal appréciées par les dosages individuels de bilirubine et de l'albumine.

Objectifs de l'étude

Depuis 1989, le dosage de la BNL est réalisé au CNRHP par une méthode à la peroxydase sur un instrument dédié à cette mesure (UB Analyser, Arrows, Co, Ltd, Osaka, Japon, non automatisé). Le but de cette étude a été d'adapter et de valider cette méthode de dosage sur le CX4-CE puis le DxC 800 de Beckman Coulter.

Matériel et méthode



BNL rapidement dégradée en un leuco-dérivé par l'action d'une peroxydase en présence d'eau oxygénée, source de radicaux peroxydes.

L'étude de la cinétique de la réaction de peroxydation permet, connaissant la constante d'activité de la peroxydase, de calculer la concentration en BNL.

Réactifs et paramètres

	UB analyser	CX4-CE	DxC 800
Echantillon plasma	25 µl	7 µl	7 µl
Tampon Phosphate pH 7,4 + H ₂ O ₂	1 ml	200 µl	200 µl
Peroxydase	25 µl	6 µl	6 µl
Type de réaction		CINET1 décroissant	CINET1 décroissant
Longueur d'onde primaire	460 nm	470 nm	470 nm
Longueur d'onde secondaire		650 nm	650 nm
Température réaction	37°C	37°C	37°C
Durée incubation tampon + échantillon	variable	48 s	48 s
Lecture du blanc	Boîte noire	50 s	40 s
Début lecture après ajout peroxydase	Boîte noire	3 s	10 s
Durée lecture		30 s, 16 points	30 s

Calibrage : 2 points

Point 0 : eau distillée

Point 1 : Etalon BNL préparé au CNRHP pour une valeur cible de BNL de 0.70 µg/dl

Contrôles de qualité :

Précibil : Roche (niveau moyen)

Contrôle pédiatrique : Biorad (niveau élevé)

Stabilité des réactifs :

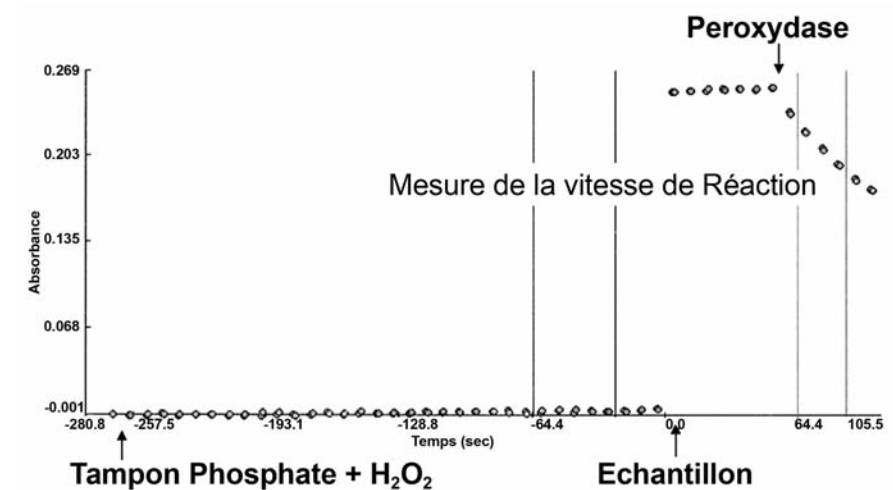
1 journée à 4 °C sur

l'appareil

Résultats

1

Cinétique de la réaction



2

Performances Analytiques DxC 800

Imprécision ► Répétabilité

	N	Moyenne µg/dl	Ecart-Type	CV %
Niveau 1	20	0.77	0.02	2.78
Niveau 2	20	1.01	0.02	1.90

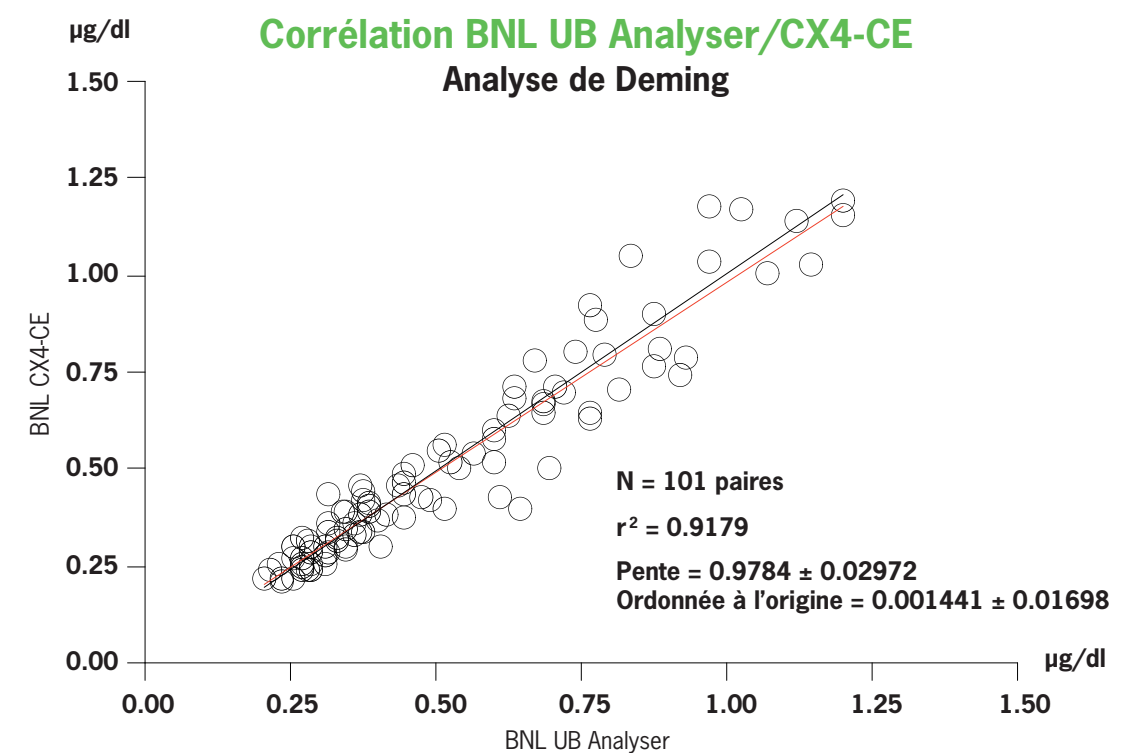
Imprécision ► Reproductibilité

	N	Moyenne µg/dl	Ecart-Type	CV %
Niveau 1	20	0.76	0.02	3.19
Niveau 2	20	1.00	0.03	2.15

3

Corrélation BNL UB Analyser/CX4-CE

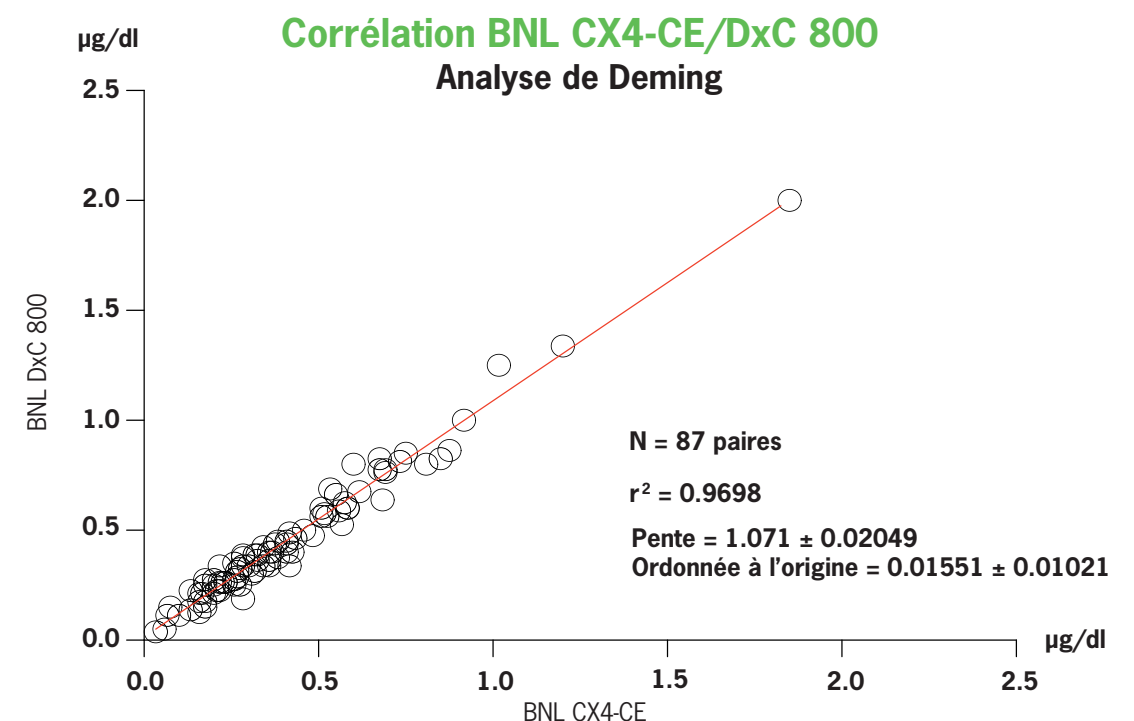
Analyse de Deming



4

Corrélation BNL CX4-CE/DxC 800

Analyse de Deming



Discussion

Les performances analytiques du dosage de la BNL sur le DxC 800 sont tout à fait satisfaisantes. Les différentes corrélations inter-instruments menées (analyse de Deming), UB Analyser/CX4-CE, CX4-CE/ DxC 800 ne révèlent pas de différences significatives entre ces trois adaptations. Un inconvénient majeur dans la réalisation de cette technique est la mauvaise stabilité des réactifs sur l'automate (24h).

Conclusion

Le dosage de BNL fait partie du bilan biologique réalisé au CNRHP pour affiner l'évaluation du risque d'encéphalopathie hyperbilirubinémique chez le nouveau-né ictérique. L'adaptation du dosage de BNL sur des analyseurs ouverts de biochimie, va rendre ce dosage plus facilement réalisable dans des laboratoires autres que celui du CNRHP, permettant ainsi de généraliser son utilisation dans l'évaluation de la gravité de l'ictère néonatal.