

BILIRUBIN-DIRECT

روش اندازه گیری

در این کیت از روش دی ازته شدن توسط اسید سولفانیلیک و آزوبیلی روبین استفاده شده است که تولید رنگ کرده و در طول موج ۵۴۶ نانومتر قابل اندازه گیری می باشد. شدت رنگ حاصل متناسب با مقدار بیلی روبین دایرکت موجود در نمونه است.

شرایط نگهداری و پایداری معرف ها

معرف ها در دمای محیط تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویال ها پایدار است، مشروط بر اینکه درب ویال ها بسته و آلوده نگردند. از یخ زدن معرف ها و نیز قرار دادن آنها در مقابل نور مستقیم خورشید خودداری شود. در صورت باز بودن درب ویال ها از مصرف آن بپرهیزید.

هشدارهای توصیه ای

قبل از شروع به کار از دستکش استفاده نمایید و اصول ایمنی کار در آزمایشگاه رعایت شود. از بلعیدن و تماس مستقیم معرف با دهان و دست و چشم ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شست و شو داده شود.

آماده سازی معرف و مواد و لوازم مورد نیاز

معرف ها آماده مصرف می باشند.

سرم فیزیولوژی (محلول سدیم کلرید ۹ گرم در لیتر)
تجهیزات معمول آزمایشگاه تشخیص پزشکی

نکات ضروری

چنانچه مقدار اندازه گیری شده بیشتر از ماکزیمم حد خوانش کیت باشد می بایست نمونه را به نسبت ۱:۱ با آب مقطر رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در ۲ ضرب نمایید. جهت انجام این آزمایش از پپت های شیشه ای تمیز و سرسمپلر نو استفاده شود. وجود کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک در طول موج معین می گردد که از علائم تخریب معرف می باشد.

عوامل مداخله گر

اسید آسکوربیک	با غلظت بیش از ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر
هموگلوبین	با غلظت بیش از ۲۵ میلی گرم در دسی لیتر
تری گلیسیرید	با غلظت بیش از ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر

نمونه مورد آزمایش

جهت انجام آزمایش از سرم تازه بدون همولیز و یا پلاسما ی هپارینه استفاده شود. از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

پایداری بیلی روبین در نمونه (سرم یا پلاسما):

دمای °C ۱۵-۲۵	به مدت ۲ روز
دمای °C ۲-۸	به مدت ۷ روز
دمای °C -۲۰	به مدت ۳ ماه

بیلی روبین دایرکت

(Bilirubin-Direct)

IFCC

(Cat No.: BP-301126)

دو معرف

معرف تشخیصی برای تعیین آزمایشگاهی و کمی بیلی روبین دایرکت در سرم و پلاسما به روش کالریمتریک

ترکیبات معرف

Components		Concentration
R1	Sulphanilic acid	30 mmol/L
	HCL	130 mmol/L
R2	Sodium nitrite	0.74 mmol/L

مقدمه

۸۵-۸۰ درصد بیلی روبین تولید شده روزانه منشا هموگلوبین دارد که از شکستن گلبول های قرمز پیر حاصل می شود و ۲۰-۱۵ درصد از شکستن پروتئین های دارای "هم" مانند میوگلوبین، سیتوکروم، کاتالاز و کاتابولیس گلبول های قرمز نارس مغز استخوان وارد جریان خون می شود. بیلی روبین غیر کونژوگ به محض تولید با اتصال به آلبومین به کبد انتقال پیدا می کند، در آنجا توسط هیپاتوسیت و آنزیم یوریدیل دی فسفات گلوکونیل ترانسفراز با اسید گلوکرونیک، کونژوگ می شود که به آن بیلی روبین کونژوگ یا مستقیم یا "دایرکت" می گویند، بصورت محلول در آب شده و از طریق مجاری صفراوی دفع می شود. افزایش بیلی روبین در نتیجه ی افزایش تولید آن در اثر همولیز (یرقان پیش کبدی) که عمدتاً از نوع غیر کونژوگ است، می باشد. از بیماری های میان کبدی می توان از هپاتیت ویرال و مزمن، سیروز کبدی و سرطان سلول های کبدی نام برد و از بیماری های یرقان پس کبدی می توان پس زدن کبد و انسداد مجاری صفراوی را نام برد. افزایش بیلی روبین می تواند منشا ارثی و مزمن داشته باشد که به آن سندروم گیلبرت گفته می شود و نسبتاً رایج است. برای دانستن میزان بیلی روبین غیر کونژوگ تفاوت بیلی روبین توتال و دایرکت را محاسبه می کنند.

BILIRUBIN-DIRECT

مقایسه روش ها

در مقایسه انجام شده به منظور بررسی کیت بیلی روبین دیاپک (Y) با یکی از متداول ترین کیت های موجود در بازار ایران (X) بروی ۳۰ نمونه بیمار نتایج زیر به دست آمد:

$$y = 1.606x + 0.003$$

$$r = 0.979$$

References

1. Rand RN, Pasqua A di. A New Diazo Method for the Determination of Bilirubin. Clin Chem. 1962 Dec 1;8(6):570-8.
2. Henry RJ. Clinical chemistry: principles and technics. Harper & Row 1966.
3. Dumas Watson X.A., Clin. Chem, Acta, 31 (1971) 87.
4. Spencer D et al., Anal. Clin. Biochem., 14 (1977) 286.
5. Tietz N., Fundamental of clinical chemistry Philadelphia W. B Saunders, (1976), 335-337.



روش اندازه گیری بصورت دستی

دما ۲۵ یا ۳۷ درجه سانتی گراد

طول موج ۵۴۶ نانومتر

قطر کوط ۱ سانتی متر

خوانش مقابل بلانک معرف روی صفر تنظیم شود

	Sample	Calibrator	Blank
Reagent 1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Calibrator	-	100 µl	-
Sample	100 µl	-	-

پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه

نموده و جذب نوری اولیه کالیبراتور و نمونه ها را بخوانید.

	Sample	Calibrator	Blank
Reagent 2	250 µl	250 µl	250 µl

پس از مخلوط نمودن ۵ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه و حداکثر

طی ۳۰ دقیقه جذب نوری استاندارد و نمونه ها را در برابر بلانک

اندازه گیری نمایید.

محاسبه و ضریب تبدیل واحد

$$\text{Bilirubin Direct (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Cal. Conc.}$$

$$\text{Bilirubin (mg/dl)} \times 17.1 = \text{Bilirubin (µmol/L)}$$

دامنه مرجع

کودکان و بزرگسالان $\leq 0.3 \text{ mg/dl}$

کنترل کیفیت

جهت کنترل کیفی می توان از سرم کنترل ها و کالیبراتورهای معتبر استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت

ماکزیمم حد سنجش 10 mg/dl

حساسیت 0.1 mg/dl

دقت

Within-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample1	0.54	0.01	2.61
Sample2	2.18	0.03	1.17

Between-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample 1	0.54	0.03	6.02
Sample 2	2.18	0.04	2.04