

نمونه مورد آزمایش:

سرم بدون همولیز یا پلاسماهای هیپارینه و یا EDTA دار.

پایداری Direct Bilirubin در نمونه، در دمای 20 تا 25 درجه سانتیگراد به مدت 1 روز و در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد به مدت 7 روز و در دمای 20- درجه سانتیگراد به مدت 1 ماه میباشد. (در صورتی که بلافاصله فریز گردد). از فریز دفریز نمودن و آلوده شدن نمونه ها جلوگیری نمایید.

موارد مورد نیازی که در کیت تعبیه نشده اند:

کنترل های 1 & 2 General Chemistry Controls شرکت شیمی آنزیم درمان و یا سایر کنترل های معتبر دارای محدوده تعریف شده برای این روش.

کالیبراتور General Chemistry Calibrator شرکت شیمی آنزیم درمان و یا سایر کالیبراتورهای معتبر دارای غلظت تعریف شده برای این روش.

سرم فیزیولوژی 0.9 درصد NaCl. تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه.

نکات قابل توجه:

از این کیت فقط برای مصرف در آزمایشگاه های تشخیص طبی میتوان استفاده نمود.

قبل از انجام آزمایش دستورالعمل و توضیحات بروشور را به دقت مطالعه نمایید.

جهت انجام این آزمایش از ظروف، لوله ها و پیت های شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده نمایید.

نمونه های شدیداً لیپمیک (تریگلیسرید بیشتر از 3000 mg/dl) ممکن است سبب نتایج نرمال شوند، چنین نمونه هایی را با سرم فیزیولوژی به نسبت 1 به 4 رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد 5 ضرب نمایید.

خصوصیات عملکردی کیت:

ماکزیمم حد سنجش:

این کیت جهت اندازه گیری Direct Bilirubin تا غلظت 10 mg/dl طراحی شده است. نمونه های با غلظت بیش از 10 mg/dl را قبل از آزمایش به نسبت 1 به 2 با سرم فیزیولوژی 0.9 درصد NaCl، رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد 3 ضرب نمایید.

حداقل میزان قابل اندازه گیری (LOD): 0.1 mg/dl

دقت:

Intra Assay-Within run Direct Bilirubin

Sample	n	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
1	20	1.16	0.05	4.39
2	20	1.80	0.04	2.49

Inter Assay-Between run Direct Bilirubin

Sample	n	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
1	20	1.21	0.07	5.45
2	20	1.84	0.10	5.29

صحت:

جهت ارزیابی صحت، از مقایسه روش ها استفاده شده است. در این بررسی، این کیت با یکی از متداول ترین کیت های معتبر موجود مقایسه گردیده و نتایج زیر حاصل شده است:

$$r = 0.995$$

$$Y = 0.95 (X) + 0.04 \text{ mg/dl}$$

عوامل مداخله گر:

آنالیت های زیر تا مقادیر ذکر شده تداخلی در این آزمایش ایجاد نمیکند:

Ascorbic acid	30 mg/dl
Haemoglobin	20 mg/dl
Triglycerides	600 mg/dl

مقادیر مرجع:

بزرگسالان و کودکان	≤ 0.3 mg/dl
--------------------	-------------

"توصیه میگردد که هر آزمایشگاه با توجه به اطلاعات آماری بیمارانش محدوده (دامنه) مرجع مختص به خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج این آزمایش باید با تاریخچه پزشکی بیمار، دیگر آزمایش ها و یافته ها بطور همزمان مورد بررسی قرار گیرند."

Ref. No.	حجم معرف R1	حجم معرف R2	Total Vol.	دمای نگهداری
DBR-MPR	4 x 60 ml	1 x 60 ml	300 ml	2-8 °C

کاربرد:

جهت اندازه گیری کمی Direct Bilirubin در سرم و پلاسماهای انسانی به روش دستی و دستگاهی.

اهمیت بالینی:

80 الی 85 درصد بیلیروبین تولید شده روزانه منشاء هموگلوبین دارد که از شکستن گلوبول های قرمز پیر حاصل میشود و 15 الی 20 درصد از شکستن پروتئین های دارای "هم" مانند میوگلوبین، سیتوکروم، کاتالاز و کاتابولیسیم گلوبول های قرمز نارس مغز استخوان وارد جریان خون میشود. بیلیروبین به محض تولید با اتصال به آلبومین (بیلیروبین غیر کونژوگه) به کبد انتقال پیدا میکند که در آن جا توسط هیاتوسیت و آنزیم یوریدیل دی فسفات گلوکونیل ترانسفراز با اسید گلوکورونیک کونژوگه میشود. بیلیروبین مستقیم و به صورت محلول در آب از طریق مجاری صفراوی دفع میشود. افزایش بیلیروبین در نتیجه افزایش تولید آن در اثر همولیز (یرقان پیش کبدی) که عمدتاً از نوع غیر کونژوگه است، میباشد.

در 60 تا 70 درصد نوزادان به دلیل تخریب گلوبول های قرمز و تاخیر عملکرد آنزیم ها در تجزیه بیلیروبین حاصل از آن، سطح بیلیروبین افزایش می یابد. بیلیروبین غیر کونژوگه با هر غلظتی که در پلاسما وجود داشته باشد در ادرار دفع نمیشود. چون به علت اتصال قوی با آلبومین از گلوامرول فیلتر نمیشود ولی بیلیروبین کونژوگه پیوند ضعیفی با آلبومین دارد و به راحتی از گلوامرول ها فیلتر میشود. اندازه گیری بیلیروبین مستقیم برای تشخیص یرقان های به اصطلاح میان کبدی و پس کبدی انجام میشود که در رابطه با نوع کونژوگه است. از بیماری های میان کبدی، میتوان از هپاتیت ویرال و مزمن، سیروز کبدی و سرطان سولول های کبدی نام برد و از بیماری های یرقان پس کبدی میتوان پس زدن کبد و انسداد مجاری صفراوی نام برد. علاوه بر این افزایش بیلیروبین میتواند منشاء ارثی و مزمن داشته باشد که به آن سندرم گیلبرت گفته میشود و نسبتاً رایج است. بیلیروبین مستقیم در انسداد مجاری خارج کبدی (تومور، التهاب، سنگ صفراوی) و سندروم روتور افزایش می یابد. همچنین در آنمی داسی شکل، یرقان همولیتیک، اریتروبلاستوز جنینی و سندروم گیلبرت سطح بیلیروبین غیر کونژوگه افزایش می یابد. برای دانستن میزان بیلیروبین غیر کونژوگه تفاوت بیلیروبین توتال و مستقیم را محاسبه میکنند.

اساس روش:

در این روش از دی اژه شدن توسط اسید سولفانلیک استفاده شده است که مستقیماً با بیلیروبین کونژوگه تشکیل آرو بیلیروبین داده و تولید کمپلکس رنگی میکند. شدت رنگ حاصل در طول موج 540-546 نانومتر قابل اندازه گیری بوده که متناسب با میزان Direct Bilirubin موجود در نمونه میباشد.

شرایط نگهداری و آماده سازی معرف ها:

معرف ها آماده مصرف میباشد. قبل از استفاده محتویات هر ظرف را به آرامی مخلوط نمایید. معرف ها در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویال ها پایدار میباشد، مشروط بر اینکه درب ویال ها بسته و آلوده نگردند. از فریز نمودن و قرار دادن معرف ها در مقابل نور خودداری نمایید.

محلول شماره 1: شفاف و بدون رنگ.

محلول شماره 2: شفاف و بدون رنگ.

نحوه امحاء پسماند:

معرف های باقیمانده در ویال ها، مطابق دستورالعمل های دفع پسماند میبایست با آب فراوان رقیق و سپس دفع گردند. (دستورالعمل مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی مرجع سلامت)

هشدار ها:

از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاه های تشخیص طبی میتوان استفاده نمود. در هنگام کار با معرف ها، از وسایل حفاظت فردی مانند: دستکش، عینک و ... استفاده شود و کلیه موارد ایمنی مطابق با دستورالعمل های ایمنی در آزمایشگاه رعایت گردد. در صورت تماس مستقیم معرف ها با دهان، دست و چشم ها، بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

این محصول بر روی انواع دستگاه‌های اتوآنالایزر بیوشیمی قابل نصب می‌باشد. جهت نصب یا دریافت پارامترهای مربوطه می‌توانید با بخش پشتیبانی شرکت شیمی آنزیم درمان تماس حاصل فرمایید.

References:

- 1-Thomas L ed. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-books verlagsgesellschaft, 1998. P 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-Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962, 6:570-8.
- 4-Tietz NW clinical guide to laboratory tests 3rd ed.
- 5-Friedman & Young effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACP pres.
- 6-Malloy, H.T & Evelyn, KA, J.Biol. Chem. 119,481(1937)

نمادها:

نشانی محل تولید	
تاریخ تولید	
شماره کاتالوگ	
شماره رسته تولید	
تعداد/مقدار/حجم	
محدودیت دمای نگهداری	
تاریخ انقضاء	
احتیاط	
دستورالعمل استفاده	
محصول تشخیص آزمایشگاهی	
حمل و نقل/جا به جایی با دقت	
نگهداری در مکان خشک	
سمت/جهت قرار دادن بسته بندی	

روش آزمایش:

طول موج	546 nm (540-546)
دمای انکوباسیون	37 °C
قطر کووت	1 cm
اندازه‌گیری	اندازه‌گیری در مقابل بلانک معرف

دو محلوله	بلانک	کالیبراتور/نمونه/کنترل
معرف R1	800 µl	800 µl
کالیبراتور/نمونه/کنترل	-	50 µl
مخلوط کرده، به مدت 5 دقیقه در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه کرده و جذب نوری اولیه کالیبراتور و نمونه‌ها را اندازه‌گیری نمایید (A1) و سپس معرف R2 را اضافه نمایید:		
معرف R2	100 µl	100 µl
مخلوط کرده، دقیقاً به مدت 2 دقیقه در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه کرده و بلافاصله جذب نوری ثانویه کالیبراتور و نمونه‌ها را اندازه‌گیری نمایید (A2).		

محاسبات:

$$\text{Direct Bilirubin (mg/dl)} = \frac{(A2-A1) \text{ Sample}}{(A2-A1) \text{ Cal.}} \times \text{Cal. Conc. (mg/dl)}$$

تبدیل واحد:

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

