



کیت تشخیص کمی بیلیروبین توتال دی آزما طب

محتویات کیت: Reagent 1 (4 x 80 ml)

Reagent 2 (1 x 80 ml)

کاربرد: تعیین کمی بیلیروبین توتال در سرم و پلاسما حاوی EDTA یا هپارین در آزمایشگاه‌های بالینی

مقدمه: بیلیروبین (رنگدانه اصلی در صفرا) محصول اصلی کاتابولیسم هموگلوبین است. در بدن انسان دو نوع بیلیروبین وجود دارد: بیلیروبین کونژوگه و غیرکونژوگه. بیلیروبین غیرکونژوگه آزاد شدیداً غیر قطبی و نامحلول در آب است. بیلیروبین پس از تشکیل در سلول‌های رتیکولواندوتلیال به آلبومین متصل شده و به کبد منتقل می‌شود که در آنجا توسط واکنش آنزیمی گلوکوروئیل ترانسفراز با گلوکوروئید کونژوگه می‌شود. کونژوگه سازی و ترشح مؤثر بیلیروبین بستگی به عملکرد مناسب سیستم کبدی - صفراوی و میزان نوسازی و تخریب گلبول قرمز خون دارد؛ بنابراین اندازه‌گیری بیلیروبین غیرکونژوگه (غیرمستقیم) و کونژوگه (مستقیم) می‌تواند در ارزیابی عملکرد سیستم کبدی - صفراوی و خون‌سازی کمک‌کننده باشد. در نوزادان مقادیر بیلیروبین بسیار حائز اهمیت است زیرا بیلیروبین غیرکونژوگه اضافی در مغز تجمع یافته و آسیب‌های غیرقابل جبران ایجاد می‌کند.

اساس آزمایش: DCA Method

بیلیروبین مستقیم (کونژوگه و محلول در آب) در حضور دیازوتید ۲ و ۴ دی کلرو آنیلین یک ترکیب قرمز رنگ را در محلول اسیدی تشکیل می‌دهد که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار بیلیروبین سرم است. بیلیروبین غیرکونژوگه را بر اساس اختلاف میان بیلیروبین تام و مستقیم تخمین می‌زنند.

اجزا و غلظت معرف‌ها:

Reagent	concentration
Reagent 1:	
Sulfamic acid	300 mmol/L
Sodium Chloride	300 mmol/L
Reagent 2:	
2,4-Dichlorophenyl:	25 mmol/L
Sodium Nitrite	25 mmol/L
HCl	25 mmol/L

پایداری و نگهداری محصول:

* در دمای °C ۸-۲ تا تاریخ انقضا درج شده بر روی محصول قابل استفاده می‌باشد.
* یخ‌زدگی، قرار گرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می‌گردند.

مواد و تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش:

- کالیبراتور و کنترل

- سرم فیزیولوژی
- دستگاه اتوآنالایزر یا فوتومتر

شرایط آزمایش:

- طول موج مناسب: ۵۴۶ نانومتر
- دمای مناسب: °C ۳۷

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم یا پلاسما حاوی EDTA یا هپارین می‌باشد.
- همولیز و لیپمیک شدید نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می‌گردد.
- نمونه را از تابش نور و اشعه ماوراءبنفش دور نگاه دارید زیرا بیلیروبین در معرض نور شکسته می‌شود. نمونه‌ها در کمترین زمان آنالیز گردند.
- هموگلوبین بالا واکنش دی‌آزو را مهار و امکان منفی کاذب نتایج وجود دارد.
- رعایت ۸ ساعت ناشتایی به کسب نتایج بهتر کمک می‌کند.
- برای نگهداری در °C ۲۰- حتماً دقت داشته باشید که نمونه بلافاصله فریز گردد.
- نمونه‌ها به مدت ۷ روز در دمای °C ۸-۲ و سه ماه در دمای °C ۲۰- پایدار می‌باشند.
- از آلوده شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

نحوه آماده‌سازی ریجنت‌ها:

**ریجنت‌ها به صورت آماده قابل استفاده هستند.

احتیاط و نکات ایمنی:

- از بلعیدن و تماس مستقیم با پوست خودداری گردد.
- در صورت تماس با چشم با آب فراوان شسته شود.
- این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است.
- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

- (۱) دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول موج مناسب را انتخاب کنید.
- (۲) درون کووت‌های مجزا ۸۰۰µl ریجنت شماره ۱ را به ۲۰µl از نمونه، کالیبراتور و کنترل اضافه و مخلوط نموده سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای °C ۳۷ انکوبه نمایید.
- (۳) دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر نمایید.
- (۴) خوانش اول جذب نوری (A1) را انجام دهید
- (۵) سپس ۲۰۰µl از ریجنت شماره ۲ را نیز به کووت اضافه نموده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای °C ۳۷ انکوبه نمایید.
- (۶) پس از آن خوانش دوم جذب نوری (A2) را انجام داده و سپس برای محاسبه از فرمول زیر استفاده کنید.

Total Bilirubin Quantitative Assay Kit

دی آزما طب

DIAZMA

Model: Total Bilirubin Photometric 2.4DCA - 400 ml

Ref:1107

Diagnostic Solutions

عوامل مداخله‌گر

محاسبات:

جهت بررسی احتمال تداخل آنالیت‌های موجود در سرم بر روی تست بیلی‌روبین توتال، سرم‌های دارای مقادیر مختلف آنالیت‌های زیر مورد آزمون قرار گرفتند و تا غلظت‌های ذکر شده، این آنالیت‌ها هیچ‌گونه تأثیر مداخله-گرایانه‌ای بر نتایج این تست نداشتند.

- تری گلیسرید: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 1200 mg/dL
- اسید آسکوربیک: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 10 mg/dL
- همولیز: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 45 mg/dL

$$\frac{\Delta \text{ Abs Sample}}{\Delta \text{ Abs Standard/Cal}} \times C \text{ Standard/Cal} = \text{Bilirubin Total (mg/dl)}$$

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

دامنه مرجع:

گروه سنی	محدوده نرمال
بزرگسالان	0.3-1.2 mg/dl
نوزاد یک‌روزه	< 8.0 mg/dl
نوزاد دوروزه	1.3 – 11.3 mg/dl
نوزاد سه‌روزه	0.7 – 12.7 mg/dl
نوزاد ۴ تا ۶ روزه	0.2 – 12.6 mg/dl
نوزاد یک‌ماهه	0.2 – 1.0 mg/dl

استفاده در دستگاه اتوآنالایزر: این کیت برای استفاده با طیف وسیعی از دستگاه‌های سنجش بیوشیمی مناسب می‌باشد.

نکات:

- (۱) معرف بلانک همان ترکیب 800 μl ریجنت ۱ و 20 μl سرم فیزیولوژی یا آب مقطر است که بعد از خوانش اول با 200 μl ریجنت ۲ مخلوط می‌شود.
- (۲) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل تغییر باشد.
- (۳) ترکیباتی که برای جایگاه‌های اتصال به آلبومین رقابت می‌کنند (مانند آسپیرین و پنی‌سیلین یا sulfisoxazole) موجب تداخل با بیلی‌روبین سرم می‌گردند.
- (۴) جهت کالیبراسیون و کنترل کیفی، توصیه می‌شود از کالیبراتور و سرم کنترل‌های شرکت دی‌آزما طب استفاده شود. همچنین امکان استفاده از کالیبراتور و سرم کنترل‌های سازگار با روش کیت از منابع معتبر موجود در کشور نیز وجود دارد.
- (۵) حجم معرف‌ها و نمونه را می‌توان به‌تناسب تغییر داد تا با هر نوع دستگاه سنجش بیوشیمی قابل خوانش باشد.

مراجع:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Edition W.B Saunders, 1987.
3. Laker, M. F., Clinical biochemistry. 1996
4. CLSI/NCCLS Evaluation Protocol, EP5-A, 1999

نشانه‌ها:

هشدار	شرایط نگهداری ۲-۸ درجه سلسیوس	شماره ساخت	شماره کاتالوگ
تاریخ انقضاء	تاریخ تولید	دستورالعمل استفاده	تولیدکننده
تاریخ تولید	قابل مصرف در آزمایشگاه	IVD	REF

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام‌شده جهت ارزیابی کیت بیلی‌روبین توتال شرکت دی‌آزما طب (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های بیلی‌روبین توتال با متد یکسان (X) بر روی ۴۴ نمونه بیمار نتیجه زیر به دست آمد:

$$Y = 0.9898x - 0.0016, \quad r^2 = 0.9993$$