کیت سنجش Bilirubin Direct

(Malloy-Evelyn)

REF: PA17001-400 R1 4 x 80 mL / R2 1 x 80 mL
REF: PA17001-200 R1 2 x 80 mL / R2 1 x 40 mL
ISO: 13485:2016

مقدمه:

تقریبا ٪۸۵-۸۰ بیلی روبین سرم، حاصل از نیمه هم در هموگلوبینی است که از گلبول های قرمز پیر و فرسوده در سلول های رتیکولوائدوتلیال آزاد می شود. بیلی روبین به آلبومین متصل شده، به کبد انتقال یافته و در آنجا بلافاصله با اسیدگلوکورونیک کونژوگه می شود تا قابلیت انحلال آن افزایش یابد، سپس به مجرای صفراوی ریخته و سرانجام در روده هیدرولیز می شود.

غلظت بیلی روبین غیرکونژوگه سرم در صورت افزایش تولید بیلی روبین(در آنمی های همولیتیک حاد و مزمن) اختلال در متابولیسم بیلی روبین و انتقال آن(اشکال در برداشت توسط سلولهای کبدی: سندرم گیلبرت، اختلال در کونژوگه شدن بیلی روبین:سندرم کریگلر-نجار) افزایش می یابد. کاهش دفع (در نتیجه آسیب به سلول های کبدی: هپاتیت،سیروز و ...، سندرم دوبین-جانسون و سندرم روتور) و انسداد مجاری صفراوی(که اغلب به سبب سنگ های صفراوی و یا تومورها ایجاد می شود) به میزان قابل توجهی بیلی روبین کونژوگه و در میزان کمتری بیلی روبین غیر کونژوگه را بالا می برد که به آن " هایپر بیلی روبینمی کونژوگه " می گویند.

روش : **Malloy-Evelyn**

اصول آزمایش:

اسیدسولفانیلیک در واکنش با نیتریت سدیم تشکیل Diazotized sulfanilic acid می دهد. در حضور تسریع کننده (Cetrimide)، بیلی روبین کونژوگه و غیر کونژوگه در واکنش با Diazotized sulfanilic acid شرکت کرده و تولید آزوبیلی روبین (بیلی روبین توتال ۱+۴) می نمایند. در غیاب تسریع کننده فقط بیلی روبین کونژوگه (بیلی روبین دایرکت ۱+۴) وارد واکنش می شود.

افزایش جذب نوری در ۵۵۰ نانومتر متناسب با غلظت بیلی روبین می باشد.

Melloy-Evelyn modified. End point.

$$\text{Sulphanilic acid} + NaNO_2 \longrightarrow \text{Diazotized sulphanilic acid}$$

$$\text{Bilirubin} + \text{Diazotized sulphanilic acid} \longrightarrow \text{Azobilirubin}$$

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	Sulfanilic acid	29 mmol/L
R2	Sodium nitrite	11 mmol/L

نمونه مورد آزمایش:

سرم تازه بدون همولیز، پلاسمای هپارینه و یا EDTA دار. نمونه ها را در برابر نور محافظت کنید. در دمای ۸-۲ درجـه سانتیگـراد برای ۴ روز و در فریزر برای مدت ۲ ماه پایدار هستند.

آماده سازی محصول:

معرف های R1 و R2 آماده مصرف می باشند.

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر

۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۵۵۰ نانومتر

۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد (۰/۱ درجه سانتیگراد)

۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده

۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی

۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه

۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر (میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

نگهداری و پایداری:

- معرفها در صورتیکه در دمای ۲۵° C - ۱۵ به دور از نور مستقیم نگهداری شوند تا پایان تاریخ انقضاء درج شده بر روی برچسب کیت پایدار و قابل استفاده خواهند ماند.
- از آلوده شدن معرفها و نگهداری آنها در دمای انجماد یا در معرض نورمستقیم خودداری شود.

روش انجام آزمایش:

پارامترها: **دما**: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۵۵۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل بلانک معرف / **نوع واکنش**: افزایشی

	بلانک	کالیبراتور/نمونه/کنترل
معرف R1	۲۴۰ میکرولیتر	۲۴۰ میکرولیتر
کالیبراتور / نمونه / کنترل	----	۲۴ میکرولیتر
مخلوط کرده ، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کنید ، خوانش اول (A1)را انجام دهید، سپس:		
معرف R2	۶۰ میکرولیتر	۶۰ میکرولیتر
مخلوط کرده، به مدت ۶ دقیقه و ۳۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه نمایید، خوانش دوم(A2) را انجام دهید.		

✓ پارامترهای این کیت برای آنالایزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

محاسبه با استفاده از کالیبراتور:

غلظت بیلی روبین نمونه = غلظت کالیبراتور یا استاندارد X $\frac{(A2-A1)\text{نمونه}}{(A2-A1)\text{استاندارد یا کالیبراتور}}$

مقادیر طبیعی:

بزرگسالان و نوزادان بعد از ۱۰ روز: ≤ 0.3 mg/dL

❊ توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.❊

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

تهران ، میدان توحید ، خیابان توحید ، بن بست آزادی ، پلاک ۳ ، واحد ۱ **پشتیبانی فنی: ۶۶۵۹۶۳۸۸-۰۲۱**

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 8 mg/dL

حساسیت: 0.05 mg/dL

توجه:

- نمونه های بیش از 8 mg/dl را به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد Nacl رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد ۲ ضرب کنید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپتهای شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=1.083X - 0.11$ $R^2=0.9958$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	0.64	0.01	1.56
Sample II	2.28	0.03	1.31

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	0.68	0.02	2.94
Sample II	2.53	0.05	1.97

تداخلات :

اسیدآسکوربیک با جهت گیری مثبت از غلظت 20 mg/dL ، هموگلوبین با جهت گیری منفی از غلظت 250 mg/dL دیده می شود. کدورتی معادل غلظت 350 mg/dL تری گلیسرید تداخلی در انجام واکنش ایجاد نمی کند. تداخل سایر مواد ممکن است وجود داشته باشد.

REFERENCES:

1. David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease . Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307–328..
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995..