کیت سنجش Bilirubin Total

(Malloy-Evelyn)

REF: PA18001-400 R1 4 x 80 mL / R2 1 x 80 mL
REF: PA18001-200 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.

Sulfanilic acid + $NaNO_2$ ⟶ Diazotized Sulfanilic acid
Bilirubin + Diazotized Sulfanilic acid ⟶ Azobilirubin

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	Sulphanilic Acid	29 mmol/L
	Cetrimide	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	----	۱۲ 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: 0.1 – 1.2 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 .

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: 15 mg/dL

حساسیت: 0.05 mg/dL

توجه:

- نمونه های بیش از 15 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

$y=1.007X + 0.01$ $R^2=0.9988$

۳- **دقت:**

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

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	1.12	0.02	1.78
Sample II	5.36	0.12	2.23

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	1.01	0.03	2.97
Sample II	5.28	0.12	2.27

نکته:

معرف ۱ "بیلی روبین توتال" ممکن است کدورت جزئی داشته باشد. این معرف حاوی دترجنتی است که می تواند در واحد شوینده بعضی دستگاه ها ایجاد کف نماید. این دو مشخصه اثری در عملکرد محصول ندارد.

تداخلات :

اسیدآسکوربیک تا غلظت 20 mg/dL ، هموگلوبین تا غلظت 2000 mg/dL و کدورتی معادل غلظت 600 mg/dL تری گلیسرید تداخلی در انجام واکنش ایجاد نمی کند. تداخل سایر مواد ممکن است وجود داشته باشد.

نکات ایمنی و هشدارها:

برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمائید. از پیپت کردن معرفها با دهان خودداری کنید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید از تماس معرف ها با پوست و چشم خودداری کرده و در صورت تماس، موضع را با آب شستشو دهید. معرف ۱ بیلی روبین دایرکت برای پوست و چشم و دستگاه تنفسی خاصیت سوزانندگی دارد، در صورت تماس با چشم با مقدار زیادی آب شسته و به توصیه های پزشکی عمل شود. معرف ۱ همچنین حاوی سولفانیلیک اسید می باشد و ممکن است واکنش آلرژیک ایجاد کند. کلیه مواد پس از مصرف باید مطابق الزامات قانونی و محلی دور ریخته شوند.

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.