

# TOTAL BILIRUBIN 4+1 (Malloy-Evelyn Modified, End Point)

## اطلاعات سفارش:

محتویات و بسته بندی:

نام کیت	شماره سفارش	محتویات	دستگاه
TOTAL BILIRUBIN 4+1	613028	R1: 2×100 ml R2: 2 × 25 ml	MPR*
TOTAL BILIRUBIN 4+1 FOR SELECTRA	613123	R1: 5×20 ml R2: 5 × 5 ml	SELECTRA Pro M/Pro XL
TOTAL BILIRUBIN 4+1 FOR HITACHI	613149	R1: 4×50 ml R2: 4 × 12.5 ml	HITACHI 911/912
TOTAL BILIRUBIN 4+1 FOR B.T	613182	R1: 4×50 ml R2: 1× 50 ml	B.T 1500/3000/3500

\*MPR: Multi-Purpose Reagent

این کیت جهت اندازه گیری کمی غلظت بیلی روبین توتال با روش دستی و انواع دستگاه های اتوآنالیزر می باشد و محتویات آن باید فقط برای فعالیت های تشخیصی آزمایشگاهی (IVD) مورد استفاده قرار گیرد.

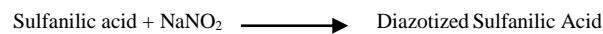
## مقدمه<sup>(1,2)</sup>:

تقریباً 80-85% از بیلی روبین سرم، حاصل هموگلوبینی است که از گلبول های قرمز در سلول های رتیکو اندوتلیال آزاد می شود. بیلی روبین به آلبومین متصل شده، به کبد انتقال یافته و در آنجا بلافاصله با اسید گلوکونیک کونژوگه می شود تا قابلیت انحلال پذیری آن افزایش یابد، سپس به مجرای صفراوی ریخته و سر انجام در روده هیدرولیز می شود. غلظت بیلی روبین غیر کونژوگه 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 سلول های کبدی؛ سندرم ژیلبرت؛ اختلال در کونژوگه شدن بیلی روبین؛ سندرم کریگلر-نجار) افزایش می یابد. کاهش دفع (در نتیجه آسیب به سلول های کبدی مانند: هیپاتیت، سیروز و ...؛ سندرم دووین-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 را بالا می برد که به آن "هایپر بیلی روبینمی کونژوگه" می گویند.

## اصول<sup>(3)</sup>:

اسید سولفانیلیک در واکنش با نیتريت سدیم تشکیل Diazotized Sulfanilic Acid می دهد. در حضور تسریع کننده (Cetrimide)، بیلی روبین کونژوگه و غیر کونژوگه در واکنش با Diazotized شرکت کرده و تولید آزوبیلی روبین (بیلی روبین توتال 4+1) می نمایند.

افزایش جذب نوری در 546 nm متناسب با غلظت بیلی روبین می باشد.



شدت رنگ تولید شده متناسب با غلظت بیلی روبین می باشد.

## محتویات معرف:

معرف شماره 1: Sulfanilic acid 29 mmol/L

Cetrimide 29 mmol/L

## معرف شماره 2:

Sodium nitrite 11 mmol/L

## نکته:

معرف 1 بیلی روبین توتال 4+1 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.

معرف 2 بیلی روبین توتال شفاف است، در صورت وجود کدورت از مصرف آن اجتناب کنید.

## آماده سازی:

محلول ها به صورت آماده برای مصرف می باشد

## نگهداری و پایداری:

در صورت نگهداری در دمای 2-8 درجه سانتی گراد و محافظت از نور و انجماد، کیت تا تاریخ انقضای درج شده روی جعبه پایدار است.

## بهداشت، ایمنی و دفع مواد زائد:

جهت حذف و دور ریز تمام پسماندها طبق الزامات قانونی و محلی عمل شود. از پیمپ کردن با دهان خودداری کنید. برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمایید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید. از تماس معرفها با پوست و چشم خودداری کرده و در صورت تماس، موضع را با آب شستشو دهید.

## نمونه ها<sup>(3,4)</sup>:

نمونه سرم بدون همولیز، پلاسمای هیپارینه

در صورت استفاده از لوله های هیپارینه طبق دستور العمل سازنده عمل نمائید. اگر این لوله ها خوبی پر نشوند می تواند منجر به حصول نتایج اشتباه گردد.

نمونه	پایداری		
	فریزر (روز)	یخچال (روز)	اتاق (روز)
در مقابل نور محافظت شود	30	7	1
سرم			

## روش انجام آزمایش:

طول موج: 546 nm (λ main) - 700 nm (λ sub)

دما: 37 °C

قطر کووت: 1 cm

نسبت نمونه به معرف: 1 به 20

دستگاه را در مقابل آب مقطر صفر کنید.

## روش دو محلوله

نمونه	استاندارد	بلاک
آب مقطر (μL)	-	50
استاندارد (μL)	50	-
نمونه (μL)	-	50
محلول معرف 1 (μL)	800	800
مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه آنکوباسیون در 37 درجه سانتی گراد، جذب نوری نمونه و استاندارد را در مقابل بلاک اندازه گیری و ثبت کنید. سپس معرف شماره 2 را اضافه کنید:		
محلول معرف 2 (μL)	200	200
مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه آنکوباسیون در 37 درجه دوباره جذب نوری آنها را در مقابل بلاک اندازه گیری کنید		

## محاسبات:

$$\Delta A: (A \lambda_{\text{main}} - A \lambda_{\text{sub}})$$

در سرم و پلازما:

$$\frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{\text{STD/Cal}}} \times \text{Conc.Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc.B.T (mg/dL)}$$

## ضریب تبدیل واحد:

$$\text{Bilirubin [mg/dL]} \times 17.1 = \text{Bilirubin [mmol/L]}$$

مراجع:

- Higgins, T., et al., Hemoglobin, iron and bilirubin, Tietz fundamentals of clinical chemistry, 6th Ed., Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders ads. Philadelphia USA), (2008), 509.
- Dufour, D.R., the liver: Function and chemical pathology, Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, 5th Ed., Kaplan, L.A., Pesce, A.J., (Mosby, Inc.), (2010), 586 and appendix.
- World Health Organization. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization; 2002.
- https://www.mayocliniclabs.com
- Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4th Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006), 172.

دامنه مرجع: برگرفته از کتاب Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests<sup>(6)</sup>

واحد	دامنه مرجع	سن	نمونه
mg/dL	<8.0	1 روزه	سرم / پلاسما
	<12.0	1 تا 2 روز	
	<16.0	3 تا 5 روز	
	1.2-0.3	بعد از 10 روز تا 60 سال	
	1.1-0.2	60 تا 90 سال	
0.9-0.2	بیشتر از 90 سال		

\*توصیه میگردد هر آزمایشگاه دامنه مرجع خود را تعیین کند.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی داخلی توصیه می گردد از کنترل های

MAN NORM (ELITROL I), REF: 613046

MAN PATH (ELITROL II), REF: 613047

MAN CAL (ELICAL2), REF: 613048 یا استاندارد بیلی روبین REF: 613044 که توسط شرکت من

تامین می گردد استفاده شود.

ویژگی ها و کارآیی کیت:

محدوده اندازه گیری:

Measuring Range: 0.25-25.00 mg/dL

Limit Of Blank (LOB): 0.0 mg/dL

Limit Of Detection (LOD): 0.04 mg/dL

Limit Of Quantification (LOQ): 0.25 mg/dL

غلظت های بالاتر از 25 mg/dL را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 4 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/5) و جواب آزمایش در عدد 5 ضرب شود. با این رقت می توان دامنه اندازه گیری را تا غلظت 60 mg/dL افزایش داد.

(نتایج حاصله براساس دستگاه SELECTRA PROM می باشد)

دقت:

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای 37 °C انجام شده است.

Level	n	Mean (mg/dL)	Within Run CV%	Between Run CV%
Low	80	1.15	1.8	5.0
Medium	80	4.08	0.4	3.1
High	80	14.61	0.5	2.9

مقایسه روش ها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت بیلی روبین توتال شرکت من (Y) با کیت تجاری بیلی روبین توتال (X) روش DCA، بر روی 100 نمونه بیمار با محدوده غلظت 0.32-23.02 mg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)= 0.999











Linear regression: Y= 0.948 (x) - 0.11 mg/dL

عوامل مداخله گر:

تری گلیسرید	تری گلیسرید تا غلظت 2100 mg/dL باعث تداخل نمی شود.
استیل سالیسیلیک اسید	استیل سالیسیلیک اسید تا غلظت 200 mg/dL باعث تداخل نمی شود.
هموگلوبین:	هموگلوبین تا غلظت 500 mg/dL باعث تداخل نمی شود.
اسید آسکوربیک:	اسید آسکوربیک تا غلظت 4.0 mg/dL باعث تداخل نمی شود.
استامینوفن	استامینوفن تا غلظت 30 mg/dL باعث تداخل نمی شود.

\*در موارد بسیار نادر منوکلونال گاموپاتی های (مولتیپل میلوما) با گونه خاصی IgM (سندرم والدن اشتروم) باعث نتایج غیر قابل قبولی می شود.

علائم:

	Temperature limitation		Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
	Batch code		Date of manufacture
	In vitro diagnostic medical device		Reagent 1
	Consult instruction for use		Reagent 2