

Direct Bilirubin

Modified DPD

مقدمه :

بیلی روبین یکی از پیگمان های زرد رنگ صفراوی است که از تجزیه طبیعی هموگلوبین حاصل می شود. بیلی روبین غیر کونژوگه آزاد شدیداً غیر قطبی و نامحلول در آب است. بنابراین برای انتقال از طحال به پانکراس از طریق خون، با آلبومین تشکیل یک کمپلکس می دهد.

بیلی روبین در کبد به اسید گلوکرونیک متصل شده و به بیلی روبین گلوکرونیک اسید تبدیل می شود و به صورت محلول در آب از طریق مجاری صفراوی دفع می گردد.

افزایش بیلی روبین در نتیجه افزایش تولید آن در اثر همولیز (یرقان پیش کبدی) ، آسیب پارانشیم کبدی (یرقان میان کبدی) و انسداد مجاری صفراوی (یرقان پس کبدی) مشاهده می شود. همچنین افزایش بیلی روبین به صورت مزمن و ارثی، سندرم گیلبرت نامیده می شود که نسبتاً رایج است.

در ۶۰ تا ۷۰ درصد نوزادان به دلیل تخریب گلبول های قرمز و تأخیر عملکرد آنزیم ها در تجزیه بیلی روبین حاصل از آن، سطح بیلی روبین افزایش می یابد.

روش های معمول اندازه گیری بیلی روبین، مقدار بیلی روبین توتال و بیلی روبین مستقیم را نشان می دهد که بیلی روبین مستقیم در واقع اندازه گیری میزان بیلی روبین کونژوگه و محلول در آب است. میزان بیلی روبین غیر کونژوگه را می توان از تفاوت میزان بیلی روبین توتال و مستقیم تعیین نمود. اختلالات متابولیسم بیلی روبین همراه با عوارض جدی به خصوص در نوزادان می باشد.

در یک فرد ۷۰ کیلوگرمی و تحت شرایط فیزیولوژیک روزانه حدود ۶ گرم هموگلوبین تخریب و دوباره سنتز می شود.

روش :

کالبرتری برای اندازه گیری فتومتریک

اساس آزمایش :

در این آزمایش بیلی روبین مستقیم در حضور دیازو ۲ و ۴ دی کلرو آنیلین تشکیل یک ترکیب ازتی قرمز رنگ در محیط اسیدی می دهد. شدت رنگ ایجاد شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه گیری است با مقدار بیلی روبین رابطه مستقیم دارد.

مقادیر معرف ها :

R 1	
EDTA-NA2	0.07 mmol/l
NaCl	6.6 g/l
Sulfanilic acid	70 mmol/l
R 2	
3,5-DPD	0.09 mmol/l
HCl	130 mmol/l
EDTA-NA2	0.02 mmol/l

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها :

دمای نگهداری محلول ها ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد می باشد.

توجه : از فریز نمودن و قرار دادن محلول ها در مجاورت نور خودداری شود.

لوازم و مواد مورد نیاز :

تجهیزات معمول آزمایشگاه پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

آماده سازی محلول ها :

دارای دو معرف بصورت آماده به مصرف می باشد.

کالبراتور و کنترل ها :

جهت کالبر و کنترل کیت Direct Bilirubin، می توانید از کالبراتور و کنترل های موجود در بازار منطبق با روش کیت شرکت پرشین تجهیز سیستم استفاده نمایید .

نمونه ها :

سرم، پلاسما همراه با هیپارین

از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود و نمونه به صورت تازه و بدون همولیز و دور از نور نگهداری شود.

روش انجام آزمایش :

طول موج : ۵۴۶ نانومتر

قطر کووت : یک سانتیمتر

دما : ۳۷ درجه سانتیگراد

اندازه گیری : فتومتر با بلانک معرف روی صفر تنظیم شود.

نمونه	کالبراتور	بلانک	محلول معرف ۱ (μl)
۸۰۰	۸۰۰	۸۰۰	
--	۱۰۰	--	کالبراتور / استاندارد (μl)
۱۰۰	--	--	نمونه (μl)

پس از مخلوط نمودن، ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده و حداکثر طی ۳۰ دقیقه جذب نوری استاندارد و نمونه ها را در برابر بلانک اندازه گیری نمایید. (A1)

محلول معرف ۲ (μl)	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
-------------------	-----	-----	-----

پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری را پس از ۵ دقیقه قرائت نمایید. (A2)

محاسبات :

$$\text{Bilirubin (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Conc. Cal (mg/dl)}$$

ضریب تبدیل واحد :

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

روش دستگاهی :

جهت دریافت روش انجام تست به صورت دستگاهی با شماره های شرکت تماس حاصل فرمایید.

هشدارها :

از بلعیدن و تماس مستقیم محلول ها با دهان و دست و چشم ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول ها رعایت گردد.

محدوده اندازه گیری :

این کیت جهت اندازه گیری Direct Bilirubin از ۰.۱ تا ۱۶ میلی گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار Direct Bilirubin بیشتر از ۸ میلی گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

Direct Bilirubin

Modified DPD

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد) :

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد :

بر طبق قوانین تدوین شده وزارت بهداشت عمل شود.

عوامل مداخله گر :

اسید اسکوربیک تا غلظت ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر، هموگلوبین تا غلظت ۲۵ میلی گرم در دسی لیتر و تری گلیسیرید تا غلظت ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در نتایج آزمایش نمی شوند.

توجه : لطفاً از به کار بردن نمونه های همولیز شده جداً خودداری شود.

دامنه مرجع :

Childrens & Adults

Up to 0.3 mg/dl

مآخذ :

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.

<i>Intra-assay precision n=50</i>	<i>Mean (mg/dl)</i>	<i>SD (mg/dl)</i>	<i>CV (%)</i>
<i>Sample 1</i>	0.105	0.004	3.51
<i>Sample 2</i>	0.205	0.005	2.68
<i>Sample 3</i>	2.034	0.032	1.57

<i>Inter-assay precision n=50</i>	<i>Mean (mg/dl)</i>	<i>SD (mg/dl)</i>	<i>CV (%)</i>
<i>Sample 1</i>	0.104	0.004	3.63
<i>Sample 2</i>	0.204	0.006	2.80
<i>Sample 3</i>	2.036	0.034	1.69

مقایسه روشها :

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت Direct Bilirubin شرکت پرشین تجهیز سیستم (Y) با یکی از متداول ترین کیت های Direct Bilirubin (X) بر روی 50 نمونه بیمار نتیجه زیر بدست آمد.

$$Y = 0.9843X - 0.0075 \text{ mg/dl}$$

$$R^2 = 0.9998$$