



شرکت افلاک طب هگمتانه

کیت تشخیص کمی بیلی روبین دایرکت در سرم و پلاسما با روش های دستی و دستگاهی

اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.BID01.99.500
حجم محلول:	R1: 5 x 80 mL R2: 1 x 100 mL

مقدمه (1):

بیلی روبین یک تتراپیرول خطی است و بیشتر از 80 درصد غلظت سرمی آن از تجزیه هم موجود در گلبول قرمز در سلول های رتیکواندوتلیال حاصل می شود. سپس توسط آلبومین به کبد منتقل شده و با اتصال اسید گلوکرونیک طی یک واکنش آنزیمی کونژوگه شده و از طریق صفرا دفع می شود. اندازه گیری بیلی روبین توتال و کونژوگه سرم به طور گسترده ای به عنوان یک آزمایش غربالگری برای عملکرد کبد استفاده می شود. هیپر بیلی روبینمی معمولاً نتیجه سندرم دوبین جانسون، سندرم گیلبرت، سندرم کریگلر نجار و بیماری مجاری صفراوی است.

اساس آزمایش (2):

اسید سولفانیلیک در واکنش با نیتريت سدیم تشکیل Acid Sulfanilic Diazotized می دهد. بیلی روبین کونژوگه در واکنش با Diazotized شرکت کرده و تولید آزوبیلی روبین می نمایند. افزایش جذب نوری در 546 nm متناسب با غلظت بیلی روبین می باشد.

ریجننت ها:

محتویات و مقادیر: (براساس محلول آماده شده برای کار)

معرف شماره یک

Sulfanilic acid	30	mmol/L
Hydrochloric acid	150	mmol/L

معرف شماره دو

Sodium Nitrite	60	mmol/L
----------------	----	--------

آماده سازی:

محلول ها به صورت آماده برای مصرف می باشد.

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف ها تا تاریخ انقضای مندرج روی کیت، در صورتی که در دمای 2 تا 8 درجه سانتی گراد نگهداری شوند و از آلودگی جلوگیری شود، پایدار هستند. معرف ها را منجمد نکنید و از نور محافظت کنید.

بهداشت، ایمنی و دفع مواد زائد:

جهت حذف و دور ریز تمام پسماندها طبق الزامات قانونی و SOP آزمایشگاه انجام شود. برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمایید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید. به دلیل وجود اسید کلریدریک از تماس معرفها با پوست و چشم خودداری کنید.

نمونه ها (3, 4):

نمونه سرم و پلاسمای هپارینه عاری از همولیز.

نمونه	پایداری		
	فریزر (روز)	یخچال (روز)	اتاق (ساعت)
دور از نور نگهداری شود	30	1	6
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 12.5
 دستگاه را در مقابل آب مقطر صفر کنید.

روش دو محلوله

نمونه	استاندارد	بلاک	نمونه
آب مقطر (µL)	-	100	-
استاندارد (µL)	100	-	-
نمونه (µL)	-	-	100
محلول معرف 1 (µL)	1000	1000	1000
مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه انکوباسیون 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)	250	250	250
مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه انکوباسیون 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 پلاسما:

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

ضریب تبدیل واحد:

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

دامنه مرجع (3,4):

واحد	دامنه مرجع	نمونه
mg/dL	<0.2	سرم/پلاسما

هر آزمایشگاه محدوده مرجع خود را تعیین نماید.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی و کالیبراسیون می توانید از کنترل ها و کالیبراتورهای بیوشیمی تجاری استفاده کنید.

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری (5,6):

Measuring Range: 0.12 – 10 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 0.051 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 0.0734 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 0.12 mg/dL

غلظت های بالاتر از 10 mg/dL را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 1 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/2) و جواب آزمایش در عدد 2 ضرب شود.

دقت (7):

	n	Mean (mg/dL)	Within Run CV%	Total CV%
Low	80	0.50	2.0	2.1
Normal	80	1.20	4.3	4.7
High	80	5.70	1.2	1.6

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

مقایسه روش ها (8):

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت بیلی روبین دایرکت شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری بیلی روبین توتال (X) روش دیاژو، بر روی 40 نمونه بیمار با محدوده غلظت 0.19 – 10.2 mg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)= 0.9999
Linear regression: Y= 1.0032 (x) – 0.012 mg/dL











مداخله گر (9):

Additive		Serum with additive	
Name	Final concentration	Bili.Direct concentration (mg/dL)	Interference%
TG	None	5.10	
	500 (mg/dL)	5.21	2.16
	600	5.21	2.16
	800	5.29	3.73
	1000	5.55	8.82
	2000	5.90	15.69
Hb	None	5.10	
	200 (mg/dL)	5.11	0.20
	400	5.21	2.16
	600	5.55	8.82
Glucose	None	5.10	
	150 (mg/dL)	5.12	0.39
	250	5.12	0.00
	500	5.25	2.94
	700	5.31	4.12
	1000	5.64	10.59
Ascorbic acid	None	5.10	
	1000 (mg/dL)	5.26	3.14
	2000	5.84	14.51

مراجع:

- Allston, C.A, Non-protein nitrogenous compounds and renal function. Clinical chemistry: Concepts and application, Anderson, S.C, Cockayne, S. (W.B. saunders ads. Philadelphia USA), (1993), 369.
- Vasiliades, j., Reaction of alkaline picrate with Creatinine.1. kinetics and mechanism of formation of the mono Creatinine picrate acid complex, clin. Chem., (1976), 22, 1664.
- <https://www.mayocliniclabs.com>
- Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4th Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006), 316.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
- Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
- Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—. Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
- Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSI EP9-A2, (2002).
- Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

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