شرکت افلاک طب هگمتانه

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

اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.BIT01.99.500
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 کونژوکه شده و از طریق صفرا دفع می شود. اندازه گیری بیلی روبین توتال و کونژوکه سرم به طور گسترده ای به عنوان یک آزمایش غربالگری برای عملکرد کبد استفاده می شود. هیپربیلی روبینمی معمولاً نتیجه سندرم دوبین جانسون، سندرم گیلبرت، سندرم کریگلر نجار و بیماری مجاری صفراوی است.

اساس آزمایش [2]:

اسید سولفانیلیک در واکنش با نیتریت سدیم تشکیلAcid Sulfanilic Diazotized می دهد. در حضور تسریع کننده بیلی روبین کونژوگه و غیر 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.

ریجنت ها:

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

معرف شماره یک

Sulfanilic acid	**30**	**mmol/L**
Hydrochloric acid	**150**	**mmol/L**
Accelerator	**...**	
Detergent	**3**	**%**

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 اتاق 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			
	اتاق (ساعت)	یخچال (روز)	فریزر (روز)	دور از نور نگهداری شود
سرم	1	7	30	

روش انجام آزمایش:

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

دما: **37 ^{0}C**

قطر کووت: **1 cm**

نسبت نمونه به معرف **1 به 25**

دستگاه را در مقابل آب مقطر صفر کنید.

روش دو محلوله

	بلانک	استاندارد	نمونه
آب مقطر (µL)	**50**	**-**	**-**
استاندارد (µL)	**-**	**50**	**-**
نمونه (µL)	**-**	**-**	**50**
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 بلانک 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 بلانک اندلزه گیری کنید			

محاسبات:

ΔA: (A λ main - A λ sub)

در سرم و پلاسما:

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

ضریب تبدیل واحد:

Bilirubin [mg/dL] ×17.1 = Bilirubin [mmol]

اطلاعات تماس: تهران، خیابان هنگام، پلاک 335، شرکت افلاک طب هگمتانه. تلفن : 02177182731

دامنه مرجع[3, 4]:

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

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 کارآیی کیت:

محدوده اندازه گیری [5, 6]:

Measuring Range: 0.12 – 20 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 0.051 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 0.0761 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 0.12 mg/dL

غلظت های بالاتر از 20 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	1.4	4.9	5.0
Normal	80	4.2	1.5	1.6
High	80	8.7	0.8	1.1

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای $37\ ^0C$ انجام شده است.

مقایسه روش ها [8]:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت بیلی روبین توتال شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری بیلی روبین توتال (X) روش دیازو، بر روی 40 نمونه بیمار با محدوده غلظت 0.38 – 19.8 mg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)= 0.9999
Linear regression: Y= 1.0097 (x) – 0.005 mg/dL

مداخله گر [9]:

	Additive	Serum with additive	
Name	Final concentration	Bili.Total 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:

1. 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
2. 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.
3. https://www.mayocliniclabs.com
4. Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4th Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006), 172.
5. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
6. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
7. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—. Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
8. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSl EP9-A2, (2002).
9. Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

علائم:

	Temperature limitation	REF	Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
LOT	Batch code		Date of manufacture
IVD	In vitro diagnostic medical device	R1	Reagent 1
	Consult instruction for use	R2	Reagent 2

اطلاعات تماس: تهران، خیابان هنگام، پلاک 335، شرکت افلاک طب هگمتانه. تلفن : 02177182731