

اهمیت بالینی:

بیلی روبین رنگدانه ی زرد مایل به نارنجی رنگ صفرا است که عمدتاً در اثر تجزیه ی هموگلوبین موجود در گلبول های قرمز خون، پس از خاتمه ی عمر طبیعی آن ها به وجود می آید. به طور معمول، بیلی روبین نامحلول در آب (غیر گنزوگه) از طریق جریان خون به کبد می رسد و در آنجا به بیلی روبین گنزوگه ی محلول در آب تبدیل و از طریق صفرا دفع می شود. در بدن هر فرد سالم روزانه ۲۵۰ میلی گرم بیلی روبین تولید می شود و قسمت اعظم آن توسط مدفوع دفع می شود. افزایش بیلی روبین خون نوزادان اغلب در اثر کمبود آنزیمی روی می دهد. این کمبود ناشی از عدم بلوغ فیزیولوژیک است. افزایش تخریب گلبول های قرمز (همولیز)، به ویژه در اثر عدم سازگاری گروه های خونی، هم می تواند باعث این بیماری شود. یرقان و افزایش بیلی روبین خون در نوزادانی که شیر مادر می خورند ممکن است در اولین هفته تولد، در نتیجه وجود متابولیتی در شیر مادر که مانع از تبدیل بیلی روبین به فرم گلوکورونید لازم برای دفع آن می شود بروز نماید. معمولاً این نوع یرقان از پنجمین روز تولد ظاهر می شود و در انتهای هفته دوم یا سوم به حداکثر می رسد. معمولاً مقدار بیلی روبین سرم از ۵ میلی گرم در صد میلی لیتر بیشتر می شود ولی به ندرت ممکن است به مقادیر خطرناک ۲۰ میلی گرم در صد میلی لیتر برسد که در این صورت می تواند موجب بیماری خطرناک کرن ایکتروس شود (kernicterus) حالتی توأم با علایم عصبی شدید است که با زردشدگی شدید هسته های قاعده ای، گلوبوس پالیدوس، پوتامن، هسته ی دم دار، هسته های مخچه ای و بولبار و ماده ی خاکستری مخچه مشخص می شود.

روش آزمایش:

این آزمایش به روش فتومتری و با استفاده از dichlorophenyldiazonium salt (DPD) می باشد.

اساس آزمایش:

بیلی روبین تام در محیط اسیدی باحضور نمک دی کلروفنیلید دیازونیم DPD واکنش می دهد، یک ترکیب آزو قرمز رنگ تشکیل می دهد.

غلظت معرف ها:

Reagent 1

Phosphoric acid 50 mM, sulfamic acid 100 mmol/L, NaCl 154 mM, Stabilizers.

Reagent 2

2, 4-DPD 0.5 mM, HCl 0.9 M, stabilizers

آماده سازی و پایداری:

معرف ها در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد تا پایان مدت انقضای کیت پایدار می باشند.

بصورت تک محلوله:

سه قسمت از معرف شماره ۱ را با یک قسمت از معرف شماره ۲ مخلوط کنید. پایداری این معرف بصورت تک ریجنت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد، یک روز می باشد و باید دور از نور نگهداری شود.

نمونه ها:

سرم، پلاسما با هپارین و EDTA.

پایداری:

سرم:

در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد ۲ روز

در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتی گراد ۷ روز

در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ۳ ماه

لوازم و مواد مورد نیاز:

۱- محلول های کار

۲- تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه

۳- کالیبراتور و کنترل- استاندارد بیلی روبین شرکت بهان طب آزما جهت کالیبر کردن و کنترل های نرمال و پاتوزن این شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.

روش انجام آزمایش:

طول موج: ۵۴۶ نانومتر

دما: ۲۰ تا ۲۵ یا ۳۷ درجه سانتی گراد

قطر کووت: یک سانتی متر

تنظیم صفر: فتومتر با بلانک معرف روی صفر تنظیم گردد

روش تک محلوله:	بلانک/نمونه	بلانک/استاندارد
محلول کار تهیه شده	۲۰۰۰ میکرولیتر	۲۰۰۰ میکرولیتر
آب مقطر	۵۰ میکرولیتر	---
نمونه	---	۵۰ میکرولیتر
مخلوط نموده، بعد از ۵ تا ۱۰ دقیقه، جذب نوری استاندارد و نمونه ها را قرائت نمایید		

روش دو محلوله:	بلانک/نمونه	بلانک/استاندارد
محلول R1	۱۵۰۰ میکرولیتر	۱۵۰۰ میکرولیتر
آب مقطر	۴۰ میکرولیتر	---
نمونه	---	۴۰ میکرولیتر
مخلوط کرده و جذب نوری A1 را پس از ۵-۳۰ دقیقه قرائت نمایید سپس:		
محلول R2	۵۰۰ میکرولیتر	۵۰۰ میکرولیتر
مخلوط نموده، بعد از ۵ تا ۳۰ دقیقه، جذب نوری A2 را قرائت نمایید		

محاسبات:

در سرم یا پلاسما

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

دامنه اندازه گیری:

این کیت توانایی اندازه گیری بیلی روبین تام را از ۰/۱ تا ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر دارا است. در غلظت های بالاتر نمونه را با سرم فیزیولوژی به نسبت ۱+۱ رقیق نموده و جواب را در ۲ ضرب نمایید.

دامنه مرجع:

Total bilirubin: <1.2 mg/dl.

سرم/پلاسما

هر آزمایشگاه موظف است دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به اطلاعات آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج کلسیم باید با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

حساسیت:

حداقل بیلی روبین تام قابل اندازه گیری، ۰/۱ میلی گرم در دسی لیتر است.

نکات ایمنی و هشدارها:

از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می توان استفاده نمود. برای پایداری معرف‌ها از سدیم آزاید استفاده شده است، لذا به هیچ عنوان از دهان برای کار با پیست استفاده نشود و از تماس مستقیم محلول‌ها با دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شسته شود. کلیه هشدارهای معمول آزمایشگاه، در هنگام کار با محلول‌ها رعایت گردد. در صورت نیاز به راهنمایی‌های ایمنی در خصوص هر یک از مواد (MSDS) می توانید با شرکت تماس حاصل فرمایید.

میزان دقت:

اینترا اسی			
نمونه	میانگین mg/dl	SD mg/dl	CV%
نمونه ۱	1.29	3.96	2.6
نمونه ۲	0.01	0.01	0.2
نمونه ۳	1.1	0.4	0.7

منابع:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988; 26:783-790.
2. Farrel E.C. Calcium. In: Pesce A.J., Kaplan L.A. (ed.). Methods in Clinical Chemistry. St. Louis/Washington/Toronto: CV Mosby, 1987:865-869.
3. Gindler E.M., King J.D. Am J Clin Pathol 1972;58:376.
4. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986; 32:470-474.
5. Gosling P. Analytical reviews in clinical biochemistry: Calcium measurement. Ann Clin Biochem 1986; 23:146.
6. Guder W.G. Narayanan S., Wisser H., Zawta B. List of Analytes Preatalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
7. Külpmann W.R., Stummvoll H.K., Lehmann P. (ed.). Elektrolyte, Klinik und Labor, 2. Auflage. Wien/New York: Springer-Verlag, 1997.
8. Mathias D. Labordiagnostik bei Störungen des Knochenstoffwechsels. Clin Lab 1996; 42:1069-1073.
9. Passing H., Bablok W., A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21:709-720.
10. Schmidt-Gayk H., Blind E., Roth H.J. (ed.). Calcium Regulating Hormones and Markers of Bone Metabolism: Measurement and Interpretation, 2. Auflage. Heidelberg: Clin Lab Publications, 1997.
11. Tietz N.W., (ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:102.
12. Walters M., Gerarde H., Microchem., J., 1970: 15; 231-243
13. Akiyama, K. and Makino, I.: Rinsho-i, 19 (Suppl.), 242-244 (1993) (Japanese) (Reference value)
14. Tietz N.W., (ed.). Fundamentals of Clinical Chemistry, 3. Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1987:718-719

اینترا اسی			
نمونه	میانگین mg/dl	SD mg/dl	CV%
نمونه ۱	1.6	0.06	3.6
نمونه ۲	3.25	0.13	0.4
نمونه ۳	4.97	0.2	4.1

مقایسه روش‌ها:

از مقایسه بین کیت بیلی روبین توتال شرکت بهان طب آزما (y) با یک کیت معتبر بازار (x)، نتایج زیر به دست آمد:

$$y = 0.978 x + 0.252 \text{ mg/dl}; r = 0.989$$

محدودیت‌ها و تداخل‌گرها:

آنالیت‌های زیر در مقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی‌دهند.

تری گلیسرید تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر، هموگلوبین تا غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر در جواب آزمایش موجب تداخلی نمی‌شوند.

شرایط نگهداری:

ترکیبات کیت باز نشده، تا تاریخ انقضا کیت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد قابل استفاده می‌باشد. از فریز کردن و قرار دادن کیت در معرض نور مستقیم خودداری شود و بعد از استفاده، درب و بال‌ها را خوب ببندید.