# Bilirubin-Direct
**(DCA Method)**

REF 51402

## هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Direct Bilirubin موجود در سرم و پلاسما طراحی شده است.

## اهمیت بالینی

بیلی روبین در فرآیند تجزیه هموگلوبین در کبد ایجاد می شود. افزایش سطح بیلی روبین می تواند ناشی از مشکلاتی در عملکردکبد باشد، زیرا کبد مسئول تجزیه بیلی روبین است.تغییرات در سطح بیلی روبین همچنین ممکن است نشان دهنده مشکلات خونی مانند آنمی باشد.

## اساس اندازه گیری

در غیاب یک شتابدهنده، بیلی روبین کونژوگه با DCA ترکیب شده و آزوبیلیروبین تشکیل می شود. این ترکیب در طول موج 546 nm جذب دارد. افزایش میزان جذب با غلظت بیلی روبین کونژوگه نسبت مستقیم دارد.

## معرف ها

| | | |
|---|---|---|
| R1 | Good buffer<br>Sulfamic Acid | 110 mmol/l<br>20 mmol/l |
| R2 | Good buffer<br>DCA | 110 mmol/l<br>800 mmol/l |

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

## پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای C ° 8-2 نگهداری شود.

-در صورت نگهداری در دمای یخچال کیتها تا زمان انقضای قید شده بر روی جعبه قابل استفاده خواهند بود.

-از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.

- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

## نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- از بلعیدن،تماس با پوست،چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید.در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها(MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزرات بهداشت انجام شود.

## جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم یا پلاسما(Lithium heparin)
- پایداری آنالیت در سرم:

دما: دمای محیط 1 روز

دما: 8-2 درجه سانتیگراد 1 هفته

دما: 20- درجه سانتیگراد 6 ماه

## تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترلهای های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر/اتوآنالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

## روش انجام آزمایش

**پارامترهای دستگاهی**

| | |
|---|---|
| طول موج اول/ طول موج دوم | 546 nm/700 nm |
| دما | 37°C |
| طول مسیر عبور نور | 1 cm |
| نحوه خوانش | 2-Point End |

**نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف**

| | بلانک | استاندارد | نمونه |
|---|---|---|---|
| معرف 1 (R1) | 800µL | 800µL | 800µL |
| آب مقطر | 100µL | - | - |
| نمونه | - | - | 100µL |
| استاندارد | - | 100µL | - |
| مقادیر بالا مخلوط شده و 5 دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود، سپس جذب A1 اندازه گیری شود. | | | |
| معرف 2 (R2) | 200µL | 200µL | 200µL |
| معرف R2 اضافه شده و 5 دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود، سپس جذب A2 اندازه گیری شود. | | | |

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است. برای اندازه گیری اتوماتیک متناسب با ویژگی هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

## محاسبات

$$\text{Bilirubin D (mg/dl)} = \frac{A2S-A1S}{A2C-A1C} * Conc.Of\ calibrator$$

**Conversion Factor:**

Bilirubin D (mg/dl) *17.1 = Bilirubin D (µmol/l)

## مقادیر مرجع

| | |
|---|---|
| Adults | ≤0.4 mg/dl |

هرآزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج Direct Bilirubin باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

## پارامترهای کارایی کیت

**1- دامنه خطی بودن(Dynamic Range)**

0.03-8 mg/dl

نمونه های با غلظت بالاتر با محلول NaCl 0.9 % به نسبت 1:5 رقیق شوند.

**2- حساسیت(Sensitivity)**

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 0.03 mg/dl

**3- دقت(Precision)**

**-اینترا اسی –تکرارپذیری**

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و 20 بار اندازه گیری شد.

| Intra-Assay Precision(within-run) n=20 | | | |
|---|---|---|---|
| نمونه | میانگین(mg/dl) | SD | CV% |
| Level 1 | 0.35 | 0.01 | 2.8 |
| Level 2 | 4.21 | 0.08 | 1.9 |

**- اینتر اسی-دقت**

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز 20 بار اندازه گیری شد.

| Inter-Assay Precision(between-run) n=20/day | | | |
|---|---|---|---|
| نمونه | میانگین(mg/dl) | SD | CV% |
| Level 1 | 0.39 | 0.01 | 2.5 |
| Level 2 | 9.45 | 0.09 | 0.9 |

**4- صحت(مقایسه روش ها)**

مقایسه ایی بین کیت شرکت بهان با یکی از کیتهای معتبر بازار بر روی 60 نمونه نتایج زیر بدست آمد.

**ضریب همبستگی(R) : 0.98**

**y = 0.946x -0.36**

**5- بررسی تداخلات احتمالی**

آنالیت های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی‌دهند.

| | |
|---|---|
| Triglycerides | ≤1000mg/dl |
| Hemoglobin | ≤400mg/dl |

**کنترل کیفیت**

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

## منابع

1. Dr. Hans Bisswange, Enzyme Kinetics, second Edition, Wiley-VCH 2008

2. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.