MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي
البرنامج الآلي متوفر عند الطلب

البيليروبين الكلي و المباشر
Bilirubin Total & Direct

طريقة لونية

كاشف سائل

Cat. No. 12141

R1	2x 80 ml
R2	2x 80 ml
R3	1x 16 ml

من أجل 80 تحليل للكلي
من أجل 80 تحليل للمباشر

مبدأ الاختبار:
يتفاعل حمض السلفانيليك مع نتريت الصوديوم ليشكل صباغ آزو حمض السلفانيليك.في هذه المرحلة يتم تحديد البيليروبين المباشر عند طول موجة 550 نانومتر. عند إضافة دي مثيل سلفوكسيد كمُسَرِع للتفاعل يرتبط البيليروبين الكلي مع صباغ آزو حمض السلفانيليك لينتج صباغ الآزو. الذي يقاس عند طول موجة 550 نانومتر. كثافة اللون الناتج تناسب تركيز البيليروبين الموجود في العينة.

تركيب الكاشف:

Reagent R1		
Sulfanilic acid	25	mmol/L
hydrochloric acid	74	mmol/L
dimethylsulfoxide	7	mol/L
Reagent R2		
Sulfanilic acid	25	mmol/L
hydrochloric acid	87	mmol/L
Reagent R3		
Sodium nitrite	25	mmol/L

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:
الكاشف R1:سائل جاهز للعمل.
الكاشف R2:سائل جاهز للعمل.
الكاشف R3:سائل جاهز للعمل.
الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المكتوبة على اللصاقة في الدرجة 20- 25 مْ.
أغلق العبوات بإحكام بعد كل استخدام و تجنب تعرضها للضوء المباشر.

ملاحظة:
لا تستعمل الكاشف R3 محلول نتريت الصوديوم إذا أصبح أصفر غامق.

جمع العينة و حفظها:
1 - عينة مصل طازجة غير منحلة هي الاقتراح الأمثل.
2 - يمكن استخدام بلازما هيبارين أو فلوريد أو سيترات أو, أوكزالات أو EDTA, دون أي انحلال.
3 - البيليروبين في المصل و البلازما ثابت لمدة :
2 ساعة في الدرجة 20 – 25 مْ. 12 ساعة في الدرجة 2 – 8 مْ. 3 شهر في الدرجة – 20 مْ.
4 - احفظ العينات بعيداً عن الضوء المباشر و أشعة الشمس.

المعايرة:
مصل معياري عام MediCal U Cat .No 15011

ضبط الجودة:
مصل شاهد طبيعي Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 546nm
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	550nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37 °C / 20 – 25 °C
القياس	مقابل ناصع العينة
التفاعل	نقطة نهاية المعايرة

التحليل:
A. البيليروبين الكلي

	ناصع العينة/العياري	العينة/العياري
الكاشف R1	1000 µl	1000 µl
الكاشف R3	---	50 µl
امزج بشكل جيد ثم أضف.		
العينة/العياري	100 µl	100 µl
امزج بشكل جيد و احضن 5 دقائق في الدرجة 37 مْ. أقرأ الامتصاصية الضوئية (A) مقابل ناصع العينة أو العياري عند طول موجة 550nm. يمكن إجراء القياس خلال ساعة إضافية (في الظلام).		

B. البيليروبين المباشر

	ناصع العينة/العياري	العينة/العياري
الكاشف R2	1000 µl	1000 µl
الكاشف R3	---	50 µl
امزج بشكل جيد ثم أضف.		
العينة/العياري	100 µl	100 µl
امزج بشكل جيد و احضن .أقرأ الامتصاصية الضوئية (A مقابل ناصع العينة أو العياري عند طول موجة 550nm بالضبط بعد مدة 5 دقائق في الدرجة 20 – 25 مْ. أو 4 دقائق في الدرجة 37مْ.		

الحساب:
بالاعتماد على المعيار .STD:

$$\text{تركيز البيليروبين الكلي(mg/dl)} = \frac{A_{\text{العينة}}}{A_{\text{العياري}}} \times \text{تركيز العياري (mg/dl)}$$

$$\text{تركيز البيليروبين المباشر(mg/dl)} = \frac{A_{\text{العينة}}}{A_{\text{العياري}}} \times \text{تركيز العياري (mg/dl)}$$

بالاعتماد على عامل المعايرة الفاكتور F:

تركيز البيليروبين الكلي = $A_{\text{العينة}}$ x **12.4** (mg/dl)
تركيز البيليروبين المباشر = $A_{\text{العينة}}$ x **11.5** (mg/dl)

ملاحظة:
من المقترح لكل مخبر (بحسب كفاءة الجهاز المستخدم) أن يستخرج عامل المعايرة (F) الخاص به باستخدام محلول معايرة حسب العلاقة التالية:

$$F = \frac{Conc_{calibrator}}{A_{Calibrator}}$$

معامل التحويل بين الواحدات:

µmol/L ⟷ mg/dl
X 0.0585
17.1 X

In vitro diagnostics

First edition 2010

الخطية:

البيليروبين الكلي حتى: 20 mg/dl (340µmol/L)
البيليروبين المباشر حتى: 10 mg/dl (170µmol/L)
العينة ذات النتيجة أعلى من المحدد سابقاً يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9%(محلول ملحي) بنسبة (1+1) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 2.

التداخلات:

1 - الانحلال يتداخل في التفاعل والتراكيز المنخفضة منه تعطي غالباً قيماً طبيعية.
2 - تسبب العينات الشحمية قيماً مرتفعة خاطئة.
3 - الضوء المباشر و أشعة الشمس تعطي قيماً منخفضة خاطئة, تعرض العينة لأشعة الشمس تسبب انخفاضاً في مستوى البيليروبين حتى 50% في الساعة الواحدة.
4 - المخدّرات السامّة للكبد التي تسبّب التشمع وإنحلال الدّم تنتج قيماً مرتفعة من البيليروبين.
5 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

الكاشف يحوي مواد سامة, تجنب أي تماس مباشر و تجنب استخدام الفم لمص الكاشف.

المجال الطبيعي:

البيليروبين الكلي:		
حديثي الولادة	1 يوم	< 5.0 mg/dl
	2 يوم	< 9.0 mg/dl
	3 – 5 أيام	< 12.0 mg/dl
الرضع و الأطفال		< 1.5 mg/dl
البالغون		< 1.1 mg/dl

البيليروبين المباشر: البالغون	< 0.3 mg/dl

المراجع:

1. Seymour Winsten, Clin. Chem. Acta. 24, 441-446 (1969).
2. Martinek, R. G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
3. Kees L. J. Vink, Clin. Chem. 34/1, 67-70 (1988).
4. Kees L. J. Vink, Clin. Chem. 32/7, 1986-1393 (1986).
5. Tietz , N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Sauders Company, p. 54 (1983).
6. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.

Medichem Middle East Aleppo - Syria, E-mail: info@medichem-me.com