

Cat. No. 12151 R1 1x 40 ml R3 2x 50 ml
من أجل تحليل للكلبي R2 1x 10 ml R4 2x 50 ml
من أجل تحليل للمباشر

Cat. No. 12152 R1 1x 80 ml R3 2x 100 ml
من أجل تحليل للكلبي R2 1x 20 ml R4 2x 100 ml
من أجل تحليل للمباشر

البيليروبين الكلي و المباشر

Bilirubin Total & Direct

طريقة Jendrassik-Grôf اللونية.

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

يتفاعل حمض السلفانيليك مع نترتيت الصوديوم ليشكل صبغ أزو حمض السلفانيليك. في هذه المرحلة يتم تحديد البيليروبين المباشر عند طول موجة 550 نانومتر. عند إضافة الكافئين كمُسرع للتفاعل البيليروبين المباشر يرتبط مع صبغ أزو حمض السلفانيليك لينتج صبغ الأزو. الذي يُقاس عند طول موجة 580 نانومتر. كثافة اللون الناتج تناسب تركيز البيليروبين الموجود في العينة.

تركيب الكاشف:

Reagent R1		
Sulfanilic acid	28.9	mmol/L
hydrochloric acid	170	mmol/L
Reagent R2		
Sodium nitrite	25	mmol/L
Reagent R3		
Caffeine	260	mmol/L
Sodium benzoate	520	mmol/L
Reagent R4		
Tartarate	0.93	mol/L

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

الكاشف R1: سائل جاهز للعمل.
الكاشف R2: سائل جاهز للعمل.
الكاشف R3: سائل جاهز للعمل.
الكاشف R4: سائل جاهز للعمل.
محلول فيزيولوجي 0.9% مطلوب و لكن غير مُقَمَّم.
اللواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المكتوبة على اللصاق في الدرجة 20- 25 م.
أغلق العبوات بإحكام بعد كل استخدام و تجنب تعرضها للضوء المباشر.

ملاحظة:

لا تستعمل الكاشف R2 محلول نترتيت الصوديوم إذا أصبح لونه أصفر غامق.

جمع العينة و حفظها:

- 1 - عينة مصلى طازجة غير منحلّة هي الاقتراح الأمثل.
- 2 - يمكن استخدام بلازما هيبارين أو فلوريد أو سترات أو أوكزالاات أو EDTA، دون أي انحلال.
- 3 - البيليروبين في المصل و البلازما ثابت لمدة:
2 ساعة في الدرجة 20 - 25 م. 12 ساعة في الدرجة 2 - 8 م.
شهر في الدرجة - 20 م.
- 4 - احفظ العينات بعيداً عن الضوء المباشر و أشعة الشمس.

المعايرة:

MediCal U Cat .No 15011

مصل معياري عام

ضبط الجودة:

Meditrol N Cat .No 15171

مصل شاهد طبيعي

Meditrol P Cat .No 15181

مصل شاهد مرضي

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	الكلبي
Hg 578nm (560 - 600 nm)	المباشر
Hg 546nm (530 - 560 nm)	
T.580nm,D.550nm	
1 cm المسار الضوئي	
37 °C / 20 - 25 °C	
مقابل ناصع العينة	
نقطة نهاية المعايرة	

التحليل:

A. البيليروبين الكلي

عينة الأطفال	ناصح عينة الأطفال	العينة/العباري	ناصح العينة/العباري	الكاشف
100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	R1 الكاشف
25 µl	--	25 µl	--	R2 الكاشف
500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	R3 الكاشف
20 µl	20 µl	100 µl	100 µl	العينة/العباري
امزج بشكل جيد و احضن مدة 5 دقائق في الدرجة 37 م. أو 10 دقيقة في الدرجة 20- 25 م.				
500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	R4 الكاشف
امزج بشكل جيد و احضن مدة 5 دقائق في الدرجة 37 م. أو 10 دقيقة في الدرجة 20 - 25 م. اقرأ الامتصاصية الضوئية (A) مقابل ناصع العينة أو العباري. يمكن إجراء القياس خلال ساعة إضافية.				

B. البيليروبين المباشر

العينة/العباري	بلازما العينة/العباري	الكاشف
100 µl	100 µl	R1 الكاشف
25 µl	--	R2 الكاشف
1000 µl	1000 µl	NaCl 0.9%
100 µl	100 µl	العينة/العباري
امزج بشكل جيد و احضن مدة 5 دقائق بالضبط في الدرجة 20 - 25 م. أو 3 دقائق في الدرجة 37 م. اقرأ الامتصاصية الضوئية A مقابل ناصع العينة أو العباري عند طول موجة. يمكن إجراء القياس خلال 15 دقيقة.		

الحساب:

بالاعتماد على المعيارى .STD:

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

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

بالاعتماد على عامل المعايرة F:

$$\text{تركيز البيروبين الكلي (mg/dl)} = 10.8 \times A \text{ العينة (Hg 578nm)}$$

$$\text{تركيز البيروبين الكلي للاطفال (mg/dl)} = 50 \times A \text{ العينة (Hg 578nm)}$$

$$\text{تركيز البيروبين المباشر (mg/dl)} = 14.4 \times A \text{ العينة (Hg 546nm)}$$

معامل التحويل بين الواحدات:

$$\begin{array}{ccc} & \times 0.0585 & \\ \mu\text{mol/L} & \longleftrightarrow & \text{mg/dl} \\ & 17.1 \times & \end{array}$$

ملاحظة:

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

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

الخطية:

البيروبين الكلي حتى: 20 mg/dl (340µmol/L)
البيروبين 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 وأشعة الشمس تعطي قيماً منخفضة خاطئة. تعرض العينة لأشعة الشمس تسبب انخفاضاً في مستوى البيروبين حتى 50% في الساعة الواحدة.
- 4 - المخدرات السامة للكبد التي تسبب التشمع وإنحلال الدم تنتج قيماً مرتفعة من البيروبين.
- 5 - انظر في كتاب Young et. al. من أجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

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

المجال الطبيعي:

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

< 0.3 mg/dl	البيروبين المباشر: البالغون
-------------	-----------------------------

المراجع:

1. Jendrassik , Biochem.Z.297:81 (1938).
2. Seymour Winsten, Clin. Chem. Acta. 24, 441-446 (1969).
3. Martinek, R. G., Clin. Chem. Acta 13:161 (1966).
4. Kees L. J. Vink, Clin. Chem. 34/1, 67-70 (1988).
5. Kees L. J. Vink, Clin. Chem. 32/7, 1986-1393 (1986).
6. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACCC Press, Washington, D.C.
7. Tietz , N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p. 54 (1983).
8. Clinical laboratory diagnostics: Laboratory results /ed. By Lothar Thomas – 1. ed. - Frankfurt/main: TH-books-verl. –Ges., 1998 Einheitssacht.: Labor und Diagnose<engl.>ISBN 3-9805215-4-0 P:201.
9. Jendrassik L, Gróf P. Simplified photometric methods for the determination of bilirubin. Biochem Zschr 1938; 297: 8 1-9.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reports on analyte reference summaries of the National Reference System for Clinical Laboratory. NRSCL, 7-CR. Vilanova: NCCLS, 1989.