مجله بیماری‌های کودکان ایران
دوره ۱۷ (ویژه نامه ۲)، پائیز ۱۳۸۶: صفحه ۲۷۷-۲۸۰

گزارش کوتاه

مقایسه مقادیر بیلی روبین تام سرم نوزادان به دو روش نور سنجی مستقیم و شیمیایی

دکتر حمید رضا جوشقانی*[۱]، PhD بیوشیمی؛ ناهید کسلخه [۲]، کارشناس آزمایشگاه؛
رقیه حاجی مشهدی[۲]، کارشناس آزمایشگاه

۱. استادیار بیوشیمی، دانشکده پیراپزشکی و بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان
۲. کارشناس آزمایشگاه، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دریافت: ۸۵/۱۲/۲۱؛ بازنگری: ۸۶/۶/۲۲؛ پذیرش: ۸۶/۷/۲۳

خلاصه

هدف: بیلی روبین متابولیت نهایی هِم است. گاهی میزان بیلی روبین خون تنها متغیری است که سبب تغییر در تصمیم گیری پزشک می‌شود. از سوی دیگر اندازه گیری بیلی روبین یکی از حساس‌ترین تست‌های آزمایشگاهی است و عوامل متعددی در آن دخیل هستند. در این مطالعه بر آن شدیم که اختلاف مقادیر بیلی‌روبین توتال را بین دو روش نور سنجی مستقیم و شیمیایی مقایسه نماییم.

روش مطالعه: این مطالعه از نوع مقطعی با رویکرد تحلیلی بود که در سال ۱۳۸۵ در ۱۱۹ نمونه نوزاد انجام پذیرفت. میزان بیلی-روبین توتال به چهار روش نور سنجی مستقیم توسط دستگاه DAS و دستگاه Clinic II، روش دیازو و روش دی کلروآنیلین تعیین گردید. از آزمون‌های آماری t مستقل، ضریب همبستگی خطی، آنالیز واریانس و LSD استفاده گردید.

یافته‌ها: میانگین مقادیر بیلی روبین بر حسب میلیگرم در دسی‌لیتر در چهار روش DAS، clinic II، دیازو و دی کلروآنیلین به ترتیب ۸/۳۸ (۳/۵۹)، ۷/۸۰ (۳/۶۹)، ۹/۷۰ (۴/۰۶) و ۸/۱۷ (۴/۰۹) به دست آمد که به وسیله آزمون آنالیز واریانس اختلاف میانگین-ها معنی دار بود (P<۰/۰۰۱). مشاهده شد که روش سوم (دیازو) با سایر روش‌ها اختلاف معنی‌داری دارد اما بین سه روش دیگر تفاوت معنی دار آماری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اختلاف معنی‌دار مقادیر بیلی روبین تام در روش‌های مختلف به نظر می‌رسد جهت تصمیم گیری بهتر پزشکان هنگام پیگیری وضعیت نوزادان، در گزارش نتایج آزمایش روش انجام آزمایش نیز قید شود. همچنین پیشنهاد می‌شود جهت پیگیری تغییرات بیلی روبین یک بیمار، آزمایشات در یک مرکز انجام گردد.

واژه‌های کلیدی: بیلی روبین؛ روش شیمیایی؛ روش نور سنجی مستقیم؛ نوزاد؛ دیازو

مقدمه

بیلی روبین متابولیت نهایی هِم است. بیلی روبین در خون به دو شکل کنژوگه با اسید گلوکورونیک (مستقیم) و متصل به آلبومین (غیر مستقیم) دیده می‌شود که به مجموع این دو، بیلی‌روبین تام اتلاق می‌گردد. اندازه‌گیری بیلی‌روبین در نوزادان مبتلا به زردی یک آزمایش رایج و بسیار حیاتی است، زیرا بسیاری از نوزادان درصورت بالا بودن میزان بیلی روبین به درمان‌های خاصی ازجمله فتوتراپی و یا تعویض خون احتیاج پیدا می‌کنند.[۱] آزمایش بیلی روبین یکی از فراوان‌ترین آزمایشاتی است که برای نوزادان انجام می‌گردد.[۲]

* مسئول مقاله؛
آدرس: گرگان، بلوار هیرکان، ابتدای جاده شصت کلا، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پیراپزشکی و بهداشت، گروه علوم آزمایشگاهی
E-mail: joshaghanihr@goums.ac.ir

www.SID.ir

در یک نوزاد، گاهی تنها متغیری که سبب تغییر در تصمیم گیری پزشک می‌شود میزان بیلی‌روبین خون است و از طرفی اندازهگیری میزان بیلی روبین یکی از حساس‌ترین تست‌های آزمایشگاهی است[۳] و عوامل متعددی در اندازه‌گیری آن دخیل هستند. روش شیمیایی سنجش بیلی‌روبین یک روش استاندارد در ارزیابی یرقان نوزادی است.[۴] یکی از روش‌های مرسوم سنجش بیلی روبین توتال روش دیازو است. واکنش دیازو در سال ۱۸۸۳ شرح داده شد و هنوز این واکنش پایه اندازه گیری میزان بیلی‌روبین در اکثر آزمایشگاه‌ها است.[۵] در روش jendrasik-grof از کافئین به عنوان محلول تسریع کننده استفاده می‌شود و چنانچه از الکل به عنوان محلول تسریع کننده استفاده شود نام روش mallay-evelyn خواهد بود.[۶] روش اسپکتروفتومتری مستقیم جهت سنجش بیلی‌روبین سرم یک روش ساده و سریع است که نمونه اندکی مورد نیاز است.[۷]

در مطالعه‌ای در کرمان دقت اندازه گیری بیلی‌روبین تام در آزمایشگاه‌های مختلف که بیلی‌روبین را با روش‌های متفاوت می‌سنجیدند، در حد قابل قبول نبود.[۸] اختلاف نتایج می‌تواند به علت تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری باشد. با توجه به این که سه روش نور سنجی مستقیم توسط دستگاه، روش دی کلروآنیلین (DCA) و روش دیازو روش‌های مرسوم در اغلب آزمایشگاه‌های کشور هستند، در این مطالعه بر آن شدیم مقادیر بیلی‌روبین تام را در روش دستی و دستگاهی مقایسه کنیم تا در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار بین روش‌های مختلف توجه پزشکان را به این اختلاف جلب نماییم که در هنگام پیگیری بیماران از روش‌های یک‌سان استفاده نمایند.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی با رویکرد تحلیلی بود که در سال ۱۳۸۵ در ۱۱۹ نمونه نوزاد مراجعه کننده به بیمارستان دزیانی گرگان انجام پذیرفت. در این تحقیق حجم نمونه بر اساس واجدین شرایط و در سطح $\alpha=0.05$ و $\beta=0.2$ و اطلاعات منتشر شده[۹] برابر ۸۵ نمونه در هر روش تعیین گردید. چون مراجعه افراد برای آزمایش به صورت تصادفی انجام می‌شد، کلیه واجدین شرایط از ابتدا شمارش شدند تا تعداد ۸۵ تکمیل گردد.

از هر نوزاد که به تشخیص پزشک معالج نیاز به آزمایش بیلی‌روبین داشت میزان دو میلی لیتر خون وریدی اخذ گردید. پس از انجام آزمایش بیلی‌روبین تام در آزمایشگاه بیمارستان به روش نور سنجی مستقیم توسط دستگاه DAS، باقیمانده سرم‌هایی که فاقد همولیز بودند سریعاً در ظروف در بسته و دور از نور به آزمایشگاه تحقیقات بیوشیمی بالینی دانشگاه منتقل گردید. بنابراین جهت این مطالعه خون بیشتری از بیماران گرفته نشد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، میزان بیلی‌روبین تام به سه روش نور سنجی مستقیم توسط دستگاه clinic II، روش دی کلروآنیلین (DCA) و دیازو تعیین گردید. نتایج توسط نرم افزار SPSS ویراست ۱۱/۵ آنالیز شدند. سطح اطمینان برای کلیه آزمون‌ها ۹۵٪ در نظر گرفته شد. در این مطالعه از آزمون‌های آماری t مستقل، ضریب همبستگی خطی، آنالیز واریانس و Least Squares Difference (LSD) استفاده گردید.

یافته‌ها

میانگین مقادیر بیلی‌روبین بر حسب میلیگرم‌در دسی‌لیتر در چهار روش DAS، clinic II، دیازو و DCA به ترتیب ۸/۳۸ (۳/۵۹)، ۷/۸۰ (۳/۶۹)، ۹/۷۰ (۴/۰۶) و ۸/۱۷ (۴/۰۹) به دست آمد که به وسیله آزمون آنالیز واریانس اختلاف میانگین‌ها معنی دار بود ($P<0/001$). بیشترین مقدار بیلی‌روبین برآورد شده مربوط به روش دیازو و کمترین مقدار توسط دستگاه clininc II بود. میانگین مقادیر چهار روش محاسبه و توسط آزمون‌های متعددی ازجمله LSD بررسی گردید. در تمام آزمون‌ها مشاهده شد که روش سوم با سایر روش‌ها اختلاف معنی‌داری دارد اما بین سه روش دیگر تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد. بیشترین ضریب همبستگی خطی بین دو روش DAS و clinic II (۰/۹۴) و کمترین ضریب همبستگی خطی بین دو روش DAS و دی کلروآنیلین (۰/۷۹) دیده شد. کلیه همبستگی‌ها از نظر آماری معنی دار بودند ($P<0/001$).

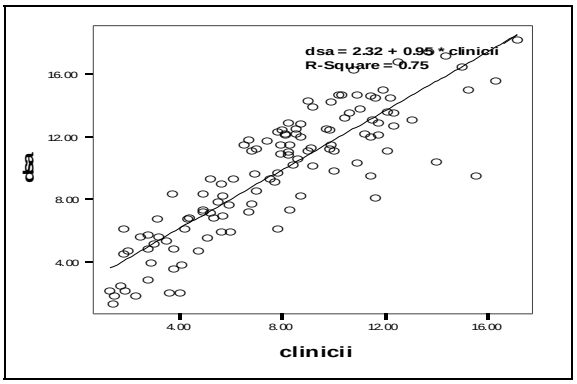
بحث

از میزان بیلی روبین توتال در این مطالعه چنین بر می‌آید که نتایج حاصل از روش‌های مختلف با یکدیگر تفاوت دارند. هرچند گاهی این تفاوت روش‌ها از نظر آماری معنی‌دار نیستند اما گاهی می‌توانند بر روی تصمیم پزشک تاثیر بگذارند.

اولین بررسی در زمینه تغییرات جواب آزمایش بیلی روبین توسط Mather در سال ۱۹۶۰ انجام شد[۱۰]. در مطالعه Hajzer و همکاران یک نمونه به دو روش دیازو (روش jendrasik-grof) و روش اسپکتروفتومتری مستقیم در ۶۶ آزمایشگاه کشور اسلواکی مورد مقایسه قرار گرفتند. بر این اساس ۶۰٪ نتایج روش دیازو و فقط ۲۲٪ روش مستقیم در محدوهٔ قابل قبول بودند[۱۱].

دکتر کاظمیان طی مطالعه‌ای برای بررسی دقت آزمایشگاه‌های شهر کرمان در اندازه گیری بیلی روبین به این نتیجه رسید که ۶۴٪ اندازه گیری‌های درون آزمایشگاهی از دقت خوبی برخوردار بوده، ولی دقت بین آزمایشگاهی به خصوص در مورد اندازه گیری بیلی روبین توتال در حد قابل قبول نمی‌باشد[۸].

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- همبستگی بین نتایج بیلی روبین تام در دو روش دیازو و clinic II

Kazmierczak و همکاران روش اسپکتروفتومتری مستقیم با دستگاه Leica را با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مقایسه کردند که بیانگر ضریب همبستگی بالای (r=0.99) این دو روش بود.[۷] در مطالعه‌ای دیگر سنجش بیلی-روبین به روش Jendrassik-Grof با HPLC مقایسه گردید و مشاهده شد که این دو روش اختلاف معنی‌دار آماری دارند، هرچند این اختلاف (5µmol/L) از نظر بالینی اهمیتی ندارد.[۴]

با توجه به شکل ۱ اگر بیلی‌روبین تام بیماری در آزمایشگاهی که بیلی‌روبین را به روش clinic II انجام می‌دهد ۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر شود، همان نمونه در آزمایشگاه دیگری که بیلی-روبین را به روش دیازو انجام می‌دهد ۱۰/۸۷ میلی‌گرم در دسی-لیتر خواهد شد. این تفاوت‌ها گاهی بسیار تاثیر گذار هستند.

نتیجه گیری

با توجه به اختلاف معنی‌دار مقادیر بیلی روبین توتال در روش‌های مختلف به نظر می‌رسد جهت تصمیم گیری بهتر پزشکان هنگام پیگیری وضعیت نوزادان، در گزارش نتایج آزمایش روش انجام آزمایش نیز قید شود. همچنین می‌توان با استفاده از روابط همبستگی روش‌ها با یکدیگر میزان بیلی‌روبین هر روش را از مقدار بیلی‌روبین سایر روش‌ها محاسبه نمود. به پزشکان نیز توصیه می‌گردد جهت پیگیری وضعیت یک بیمار تا حد امکان آزمایش در یک مرکز ثابت انجام گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of Newborn Serum Bilirubin Level with two Methods: Chemical and Direct Spectrophotometric

Hamid-Reza Joshaghani*[1], PhD, Clinical Biochemist; Nahid Kasalkhe[2], BS; Roghieh Hajimashadi[2], BS

1. Medical Laboratory Technology Department, School of Paramedicine & Health, Golestan University of Medical Sciences, IR Iran
2. Medical Laboratory Technologist, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Received: 10/03/07; Revised: 11/09/07; Accepted: 12/10/07

Abstract

Objective: Bilirubin is the endproduct of heme catabolism. Serum bilirubin level can occationally be the only variable that affects the physician's decision. Bilirubin test is one of the most sensitive tests in the clinical laboratory. The aim of this research was to compare results of chemical versus direct spectrophotometric measurement of serum bilirubin.

Material & Methods: This cross-sectional study was carried out in 2006 on 119 specimens of serum. Bilirubin levels were determined by four methods: direct spectrophotometric by DAS and clinic II instruments, chemically with dichloroaniline (DCA), and diazo methods.

Findings: Mean serum bilirubin measured by DAS, clinicII, diazo, and DCA methods was 8.38 (3.59), 7.80 (3.69), 9.70 (4.06), and 8.17 (4.09) mg/dl respectively. Difference of means was significant when examined using ANOVA (P<0.001). The differences between diazo method and the other three methods were significant, while among the latter methods there was no statistically significant difference.

Conclusion: Regarding significant differences between methods, for a better orientation of the physician and more accurate follow up of patients, we recommend to mention the method of measurement in laboratory reports.

Key Words: Bilirubin; Chemical method; Direct spectrophotometric; Diazo; Newborn

Archive

REFERNCES

1. Lawrence MG, Lee KS. Aundice and liver disease. In: Fanaroff AA and MartimRJ (Eds). Neonatal-perinatal medicine. 5th ed. Phiadelphia, Mosby Year book. 1992; P:1093.
2. Donzelli G, Pratesi S. Transcutaneous bilirubinometry in healthy preterm newborns. Clin Biochem. 2000;33(6):505-8.
3. Schlebusch H, Axer K, Schneider C, et al. Comparison of five routine methods with the candidate reference method for the determination of bilirubin in neonatal serum. J Clin Chem Clin Biochem. 1990;28(4);203-10.
4. Kazmierczak SC, Robertson AF, Briley KP, et al. Transcutaneous measurement of bilirubin in newborns: comparison with an automated Jendrassik- Grof procedure and HPLC. Clin Chem. 2004;50(2):433-5.
5. Rutledge JC, Ou CN. Bilirubin and the laboratory. Pediatr Clin North Am 1989;36(1):189-98.

۶. عابدی م‌ر. تکنیک‌ها وتشخیص‌های آزمایشگاهی، چاپ چهارم، تهران؛ نوردانش. ۱۳۸۳؛ صفحه: ۲۹۵.

7. Kazmierczak SC, Robertson AF, Catrou PG, et al. Direct spectrophotometric method for measurement of bilirubin in newborns: comparison with HPLC and an automated diazo method. Clin Chem. 2002;48(7):1096-7.

۸. کاظمیان م. بررسی دقت آزمایشگاه‌های شهر کرمان در اندازه گیری بیلی روبین. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ۱۳۷۸؛ ۷(۱):۴۲-۸.

9. Ross Jw, fraser MD. Analitical clinical laboratory precision. State of the art for twenty –nine analytes. Am J Clin Pathol. 1979;72(2):265-73.
10. Mather A. Reliability of bilirubin determinations in icterus of the new born infant. Pediatr. 1960;26:350-4.
11. Hajzer S, Osadska E, Zachenska A. Evaluaion of interlaboratory proficiency surveys of bilirubin determination in sera of newborns. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1992;30(5):291-5.

*** Correspondence Author;**
Address: School of Paramedicine & Health, Golestan University of Medical Sciences, Hirkan Blvd, Gorgan, IR Iran
E-mail: joshaghanihr@goums.ac.ir

www.SID.ir