شرکت پارس آزمون

کیت تشخیص کمی α –AMYLASE در سرم، پلاسما یا ادرار با روش فتومتریک

اطلا عات سفارش :

شماره سفارش ۱۰۴۰۵۰

حجم محلولها ۱ ویال ۴۰ میلی لیتری معرف شماره ۱

۱ ویال ۱۰ میلی لیتری معرف شماره ۲

مقدمه : (1 , 2)

آلفا آمیلاز ها آنزیم های هیدرولیتیک هستند که نشاسته را به مالتوز تبدیل می کنند و در بدن انسان از اندام های مختلف منشاء می گیرند. آمیلاز پانکراتیک توسط پانکراس تولید و در مجرای روده آزاد می گردد. آمیلاز بزاقی در غدد بزاقی ساخته شده و به بزاق می ریزد. آمیلاز توسط کلیه از گردش خون حذف شده و از طریق ادرار دفع می شود. بنابراین افزایش آمیلاز سرم منجر به افزایش آمیلاز ادراری می گردد.

اندازه گیری آلفا آمیلاز سرم و ادرار بیشتر برای تشخیص بیماری های لوزالمعده و پیشرفت عوارض آنها انجام می شود. در پانکراتیت حاد میزان آمیلاز خون، چند ساعت پس از شروع درد شکم افزایش می یابد و بعد از گذشت ۱۲ ساعت به بیشترین میزان خود می رسد و پس از ۵ روز دوباره به میزان نرمال باز می گردد.

اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز یک آزمایش اختصاصی برای تشخیص بیماری های لوزالمعده نیست، به عنوان مثال در اورپون و نارسایی های کلیه (به دلیل عدم دفع آمیلاز از طریق ادرار) نیز میزان آمیلاز سرم افزایش می یابد. بنابراین برای تشخیص پانکراتیت حاد لازم است میزان لیپاز نیز اندازه گیری شود.

روش :

آنزیمی، کالریمتری

در این روش (4,6-ethylidene-(G7)-p-nitrophenyl-(G1)-α-D-maltoheptaoside (EPS-G7 توسط آلفا آمیلاز ها به قطعات مختلفی شکسته می شود. در مرحله دوم این قطعات توسط گلوکوزیداز هیدرولیز شده و منجر به تولید گلوکز و p-nitrophenol می شود. افزایش جذب نوری، مربوط به میزان فعالیت هر دو نوع آمیلاز (پانکراتیک و بزاقی) می باشد.

ا ساس آزمایش :

$$5\ EPS\text{-}G7 + 5\ H_2O \xleftarrow{\alpha\text{–Amylase}} 2\ Ethylidene\text{-}G5 + 2\ G2PNP + 2\ Ethylidene\text{-}G4 + 2\ G3PNP + Ethylidene\text{-}G3 + G4PNP$$

$$2\ G2PNP + 2\ G3PNP + G4PNP + 14\ H_2O \xleftarrow{\alpha\text{–Glucosidase}} 5\ PNP + 14\ G$$

(PNP = P-Nitrophenol , G = Glucose)

معرفها :

محتویات و مقادیر

توجه : مقادیر زیر بر حسب محلول آماده شده برای کار می باشد.

معرف شماره ۱ :

Good's buffer	PH 7.1	0.1 mol/l
NaCl		50 mmol/l
$MgCl_2$		10 mmol/l
α- Glucosidase		$\geq$ 2 KU/l

معرف شماره ۲ :

Good's buffer	PH 7.1	0.1 mol/l
EPS-G7		1.6 mmol/l

شرایط نگهداری محلولها

محلول ها باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شوند و تا تاریخ مندرج بر روی ویالها قابل مصرف می باشند.

توجه : از فریز نمودن و قرار دادن محلول ها در مجاورت نور خودداری شود.

هشدارها

بزاق و پوست دارای آنزیم آلفا آمیلاز می باشند. بنابراین از پیپت نمودن با دهان و یا تماس محلول ها با پوست دست جداً خودداری شود.

برای پایدار نمودن محلول ها از سدیم آزاید استفاده شده است. لذا از بلعیدن و تماس مستقیم محلول ها با دهان، دست و چشم ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

بطور کلی کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول ها رعایت گردد.

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد

در مورد چگونگی دور ریز مواد در صورت وجود قوانین تدوین شده، طبق قانون موجود عمل شود.

آماده سازی محلولها

محلول های معرف ۱ و ۲ به صورت آماده مصرف می باشند.

جهت انجام تست به صورت تک محلول، محلول های شماره ۱ و ۲ باید به نسبت ۴ بعلاوه ۱ با یکدیگر مخلوط شوند. (برای مثال ۲۰ میلی لیتر محلول ۱ و ۵ میلی لیتر محلول ۲)

دوام محلول ها پس از مخلوط شدن در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد 2 ماه و در دمای ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتیگراد یک هفته می باشد.

محلول مخلوط شده باید دور از نور نگهداری شود.

لوازم و مواد مورد نیاز

تجهیزات معمول آزمایشگاه پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول Nacl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

نمونه ها :

سرم، پلاسما همراه با EDTA یا هپارین و ادرار

پایداری آلفا آمیلاز در سرم یا پلاسما :

در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد ۷ روز

در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد ۷ روز

در دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد ۱ سال

پایداری آلفا آمیلاز در ادرار :

در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد ۲ روز

در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد ۱۰ روز

در دمای منهای ۲۰ درجه ۳ هفته

از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

روش انجام آزمایش :

طول موج : ۴۰۵ نانومتر

قطر کووت : یک سانتیمتر

دما : ۳۷ درجه سانتیگراد

اندازه گیری : فتومتر با هوا روی صفر تنظیم شود

تک محلوله

	سرم یا پلاسما	ادرار
نمونه بیمار	۲۰ میکرولیتر	۱۰ میکرولیتر
محلول مخلوط شده ۱ و ۲	۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری را بعد از ۲ دقیقه قرائت نموده، کرونومتر را به کار انداخته و دقیقاً پس از ۱، ۲ و ۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین کنید.		

دومحلوله

	سرم یا پلاسما	ادرار
نمونه بیمار	۲۰ میکرولیتر	۱۰ میکرولیتر
محلول شماره ۱	۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن به مدت ۱ دقیقه انکوبه نموده و سپس محلول شماره ۲ را اضافه نمایید.		
محلول شماره ۲	۲۵۰ میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
پس از مخلوط کردن، مقدار جذب نوری را بعد از ۲ دقیقه قرائت نموده و بلافاصله کرونومتر را به کار انداخته و دقیقاً پس از ۱، ۲ و ۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین نمایید.		

محاسبات :

مقدار اختلافات جذب نوری پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ را با هم جمع نموده و بر عدد ۳ تقسیم کرده و میانگین بدست آمده را در فاکتور (مطابق جدول زیر) ضرب نمایید.

	سرم یا پلاسما	ادرار
دو محلوله	۶۴۱۴	۱۲۷۲۷
تک محوله	۵۱۵۱	۱۰۲۰۲

توجه : این فاکتورها بر اساس فتومتر استاندارد بوده و فاکتورهای فوق در فتومترها و اتوآنالیزرهای مختلف متفاوت میباشد .

در صورتیکه جمع آوری نمونه ادرار در مدت زمان خاصی (۲ ، ۴ ، ۶ ، ۸ ، ۱۲ ، ۲۴ ساعت) انجام شده باشد نتیجه به دست آمده از روش فوق را در حجم ادرار ضرب کرده و بر عدد ۱۰۰۰ تقسیم نموده و بر حسب U/xh (x = زمان های ۲ ، ۴ ، ۶ ، ۸ ، ۱۲ ، ۲۴ ساعت) گزارش نمایید.

کنترل :

جهت کنترل کیفیت، سرم کنترل های TruLab N و TruLab P شرکت پارس آزمون را بطور جداگانه تهیه نمایید.

ویژگیها و کارآیی کیت :

محدوده اندازه گیری

این کیت جهت اندازه گیری آلفا آمیلاز تا تغییرات جذب نوری 0.24 در دقیقه طراحی شده . و در مواردی که تغییرات جذب نوری بیش از 0.24 در دقیقه و یا ۱۵۰۰ U/l باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۱۱ ضرب شود.

حساسیت :

حداقل مقدار آلفا آمیلاز قابل اندازه گیری ۳ واحد بین المللی در لیتر می باشد.

عوامل مداخله گر

اسید آسکوربیک تا غلظت ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر، بیلی روبین تا غلظت ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر و تری گلیسرید تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی شوند.

هموگلوبین حتی با غلظت های پایین نیز باعث تداخل در آزمایش می شود.

توجه : لطفاً از به کار بردن نمونه های همولیز شده جداً خودداری شود.

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد)

Intra-assay precision n=20	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Sample 1	184	2.00	1.08
Sample 2	398	2.67	0.67
Sample 3	841	4.96	0.59

Inter-assay precision n= 20	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Sample 1	180	1.82	1.01
Sample 2	383	3.74	0.97
Sample 3	817	7.48	0.92

مقایسه روشها

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت آلفا آمیلاز شرکت پارس آزمون (Y) با یکی از متداول ترین کیت های آلفا آمیلاز در جهان (X) بر روی ۱۰۰ نمونه بیمار نتیجه زیر بدست آمد.

$$Y = 1.00\ (X) + 1.00\ U/l\ ;\ r = 0.998$$

د ا منه مرجع (ناشتا) : (4)

در سرم	< 100 U/l
در ادرار ۲۴ ساعته	< 410 U/l

مآخذ :

1. Lorentz K. α-Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics.1st ed.Frankfurt:TH-Books. Verlagsgesellschaft ;1998.p.192-202.
2. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of ClinicalChemistry.3rd ed.Philadelphia:W.BSaunders.Company; 1999.p.689-98.
3. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989;27:103-13.
4. Hohenwallner W, Stein W, Hafkenscheid JC, Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hubbuch A et al. Reference ranges for alpha-amylase in serum and urine with 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Clin Biochem 1989;27:97-101.

لطفاً در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر با شماره تلفن های ۶۷ الی ۰۲۶-۳۴۷۶۰۲۶۰ داخلی ۱۱۶ و 117 تماس حاصل فرمایید.

شرکت پارس آزمون (سهامی خاص)

کرج ـ شهرک صنعتی بهارستان ـ گلستان ۴ ـ پلاک ۶۳

www.parsazmun.ir

TS.M.96.12.4