α-AMYLASE Quantitative Assay Kit

Model: Enzymatic Colorimetric - 50 ml - Ref:1104

دی آزما طب
DIAZMA
Diagnostic Solutions

کیت تشخیص کمی آلفا آمیلاز دی‌آزما طب

محتویات کیت: **Reagent 1 (1 x 40 ml)**
Reagent 2 (1 x 10 ml)

کاربرد: تعیین کمی α-AMYLASE در سرم، پلاسما (حاوی EDTA و هپارین) و ادرار در آزمایشگاه‌های بالینی

مقدمه: آمیلاز آنزیمی است که عمدتاً توسط لوزالمعده و غدد بزاقی تولید شده و نقش مهمی در هضم کربوهیدرات‌ها با تجزیه نشاسته به قند دارد.
هر چند پانکراتیت یا التهاب لوزالمعده یکی از شایع‌ترین دلایل افزایش سطح آمیلاز است؛ اما اندازه‌گیری فعالیت آن یک آزمایش اختصاصی برای تشخیص بیماری‌های لوزالمعده نیست، زیرا در تعداد دیگری از بیماری‌ها از جمله اوریون، نارسایی‌های کلیه (به دلیل عدم دفع آمیلاز از طریق ادرار)، اختلالات غدد بزاقی، مشکلات گوارشی مانند انسداد یا سوراخ‌شدن روده، حاملگی خارج از رحم نیز سطح سرمی آن افزایش می‌یابد. بنابراین لازم است تا برای تفکیک و تشخیص پانکراتیت حاد، میزان لیپاز نیز در کنار آمیلاز اندازه‌گیری شود.
برعکس، سطوح پایین آمیلاز می‌تواند در شرایطی مانند پانکراتیت مزمن، فیبروز کیستیک یا سایر بیماری‌هایی که به پانکراس آسیب می‌رسانند، رخ دهد. بخش عمده آمیلاز سرم از طریق ادرار دفع می‌شود و با افزایش آمیلاز سرم، آمیلاز ادرار نیز بالا می‌رود؛ اما در بیماری Macroamylasemia مقدار آنزیم در سرم بالاست ولی به علت وجود مشکلات در دفع کلیوی (ناشی از کمپلکس آنزیم=ایمونوگلوبولین)، میزان آن در ادرار، طبیعی یا کاهش‌یافته می‌باشد.

اساس آزمایش: **Enzymatic Colorimetric**

در این روش، بستر EPS-G7 تحت‌تأثیر آلفا آمیلاز (پانکراتیک و بزاقی) به الیگوساکاریدهای کوچک‌تر تجزیه می‌شود. سپس، این ترکیبات با عملکرد گلوکوزیداز هیدرولیز شده و منجر به تولید گلوکز و p-Nitrophenol (PNP) می‌شوند.

$$5\ \text{EPS-G7} + 5\ H_2O \xleftarrow{\alpha-\text{Amylase}} 2\ \text{Ethylidene-G}_5 + 2\ G_2\text{PNP} + 2\ \text{Ethylidene-G}_4 + 2\ G_3\text{PNP} + \text{Ethylidene-G}_3 + G_4\text{PNP}$$

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

اجزا و غلظت معرف‌ها:

Reagent		concentration
Reagent 1:		
Good's buffer	PH 7.1	1 mol/L
NaCl		60 mmol/L
MgCl2		16 mmol/L
α - Glucosidase		5 KU/l
Reagent 2:		
Good's buffer	PH 7.1	1 mol/L
EPS-G7		3 mmol/L

پایداری و نگهداری محصول:

* در دمای ۸-۲ °C تا تاریخ انقضا درج‌شده بر روی محصول قابل‌استفاده می‌باشد.
* یخزدگی، قرارگرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می‌گردند.

مواد و تجهیزات موردنیاز برای انجام آزمایش:

- کالیبراتور و کنترل
- سرم فیزیولوژی
- دستگاه اتوآنالایزر یا فوتومتر

شرایط آزمایش:

- طول‌موج مناسب: ۴۰۵ نانومتر (۴۲۰-۴۰۰)
- دمای مناسب: ۳۷ °C

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم، پلاسما (حاوی EDTA و هپارین) و ادرار می‌باشد.
- همولیز و لیپمیک شدید نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می‌گردد.
- نمونه و ریجنت‌ها دور از نور قرارگرفته و نمونه‌ها در کمترین زمان آنالیز گردند.
- بزاق و پوست دارای آنزیم آلفا آمیلاز هستند، بنابراین از پیپت کردن با دهان و تماس محلول‌ها با پوست دست جداً خودداری کنید.
- آنزیم آمیلاز در محیط اسیدی پایدار نمی‌باشد؛ لذا قبل از ذخیره ادرار باید pH نمونه را به حدود 7 رساند.
- نمونه‌های سرم و پلاسما به مدت ۲-۱ روز در دمای اتاق، به مدت ۷ روز در دمای ۸-۲ °C و ۳-۱ ماه در دمای ۲۰- °C پایدار می‌باشند.
- نمونه‌های ادرار به مدت ۸-۴ ساعت در دمای اتاق، ۳۰-۲ روز در دمای ۸-۲ °C و یک ماه در دمای ۲۰- °C پایدار می‌باشند.
- برای نگهداری در ۲۰- °C حتماً دقت داشته باشید که نمونه بلافاصله فریز گردد.
- نمونه‌های ادرار که دارای رسوب هستند را قبل از آزمایش سانتریفیوژ نمایید.
- از آلوده‌شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

نحوه آماده‌سازی ریجنت‌ها:

** ریجنت‌ها به‌صورت آماده قابل‌استفاده هستند.

احتیاط و نکات ایمنی:

- از بلعیدن و تماس مستقیم با پوست خودداری گردد.
- در صورت تماس با چشم با آب فراوان شسته شود.
- این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی‌شده است.

تهران، شهرک صنعتی صفادشت، خیابان ششم غربی، مجتمع صنعتی خشایار
شماره تماس: ۰۲۱۶۵۷۴۳۱۲۲
وب‌سایت: diazmateb.ir
شماره تماس دفتر مرکزی: ۰۲۱۶۶۵۶۶۰۹۳

α-AMYLASE Quantitative Assay Kit

Model: Enzymatic Colorimetric - 50 ml - Ref:1104

دی آزما طب
DIAZMA
Diagnostic Solutions

- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین‌شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

۱) دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول‌موج مناسب را انتخاب کنید.
۲) درون کووت‌های مجزا 1000 µl ریجنت شماره ۱ را با 20 µl از نمونه، کالیبراتور و کنترل مخلوط نموده سپس به مدت ۱ دقیقه در ۳۷ °C نگه دارید و سپس معرف شماره ۲ را به میزان 250 µl اضافه نمایید.
۳) دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر نمایید.
۴) پس از ۲ دقیقه، جذب نوری را قرائت کنید. بلافاصله کرنومتر را راه‌اندازی نمایید، در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه جذب نوری را ثبت کرده و اختلاف جذب نوری بین قرائت‌ها را محاسبه نمایید.

محاسبات:

مقدار اختلافات جذب نوری را با هم جمع نموده و بر عدد ۳ تقسیم کرده و میانگین به‌دست‌آمده را در عدد ۶۴۱۴ ضرب نمایید.

توجه: این فاکتور بر اساس فوتومتر استاندارد بوده و در فوتومترها و اتوآنالایزرهای مختلف می‌تواند متفاوت باشد.

دامنه مرجع:

سرم یا پلاسما	28 to 100 U/L
ادرار	< 490 U/L

مقادیر نرمال ممکن است از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر متفاوت باشد؛ لذا هر آزمایشگاه باید محدوده‌های مرجع را برای بیماران خود تهیه کند.

نتایج عملکردی و کارایی کیت:

خطی بودن: با این روش مقدار آمیلاز تا U/L ۹۰۰ خطی اندازه‌گیری می‌شود. نمونه‌های با غلظت بالاتر را به نسبت **۱** واحد نمونه با **۹** واحد سرم فیزیولوژی رقیق نموده و جواب‌ها را در عدد **۱۰** ضرب نمایید.

حساسیت: حداقل مقدار قابل‌اندازه‌گیری U/L ۳ می‌باشد.

دقت: تکرارپذیری با استفاده از نمونه‌های انسانی تعیین و نتایج زیر به دست آمد:

α-AMYLASE mean (U/L)	Within-run (CV%)	Between-run (CV%)
72.35	1.12	1.84
226.5	0.76	0.62
	n[1] =20 replicate	n[1] =4 runs

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام‌شده جهت ارزیابی کیت آلفا آمیلاز شرکت دی‌آزما طب (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های آلفا آمیلاز با متد یکسان (X) بر روی ۴۴ نمونه بیمار نتیجه زیر به دست آمد:

$Y=0.9924X + 0.7253, \quad r^2=0.9998$

عوامل مداخله‌گر

- **تری‌گلیسرید:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 1000 mg/dL
- **بیلی‌روبین:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 40 mg/dL
- **اسید آسکوربیک:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 30 mg/dL
- **همولیز** حتی با غلظت‌های پایین نیز باعث تداخل در آزمایش می‌شود.

استفاده در دستگاه اتوآنالایزر: این کیت برای استفاده با طیف وسیعی از دستگاه‌های سنجش بیوشیمی مناسب می‌باشد.

نکات:

۱) معرف بلانک همان ترکیب 1000 µl ریجنت و 20 µl سرم فیزیولوژی یا آب مقطر است. در روش دستی می توان فوتومتر را با هوا روی صفر تنظیم کرد.
۲) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورداستفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل‌تغییر باشد.
۳) جهت کالیبراسیون و کنترل کیفی، توصیه می‌شود از کالیبراتور و سرم کنترل‌های شرکت دی‌آزما طب استفاده شود. همچنین امکان استفاده از کالیبراتور و سرم کنترل‌های سازگار با روش کیت از منابع معتبر موجود در کشور نیز وجود دارد.
۴) حجم معرف‌ها و نمونه را می‌توان به‌تناسب تغییر داد تا با هر نوع دستگاه سنجش بیوشیمی قابل خوانش باشد.

مراجع:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Edition W.B Saunders, 1987.
3. Laker, M. F., Clinical biochemistry.1996
4. CLSI/NCCLS Evaluation Protocol, EP5-A, 1999

نشانه‌ها:

شرایط نگهداری ۸-۲ درجه‌سلسیوس		هشدار	
شماره‌ساخت	LOT	تاریخ‌انقضاء	
دستورالعمل‌استفاده		تاریخ‌تولید	
تولیدکننده		IVD	قابل مصرف در آزمایشگاه
شماره‌کاتالوگ	REF		

تهران، شهرک صنعتی صفادشت، خیابان ششم غربی، مجتمع صنعتی خشایار
شماره تماس: ۰۲۱۶۵۷۴۳۱۲۲
وب‌سایت: diazmateb.ir
شماره تماس دفتر مرکزی: ۰۲۱۶۶۵۶۶۰۹۳