

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم یا پلاسما حاوی هیپارین و ادرار می باشد.
- هرگونه همولیز و لیپمیک شدید نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می گردد.
- رعایت ناشتایی برای این تست الزامی نیست.
- برای نگهداری نمونه‌ها در 20°C - حتماً دقت داشته باشید که نمونه بلافاصله فریز گردد.
- در ادرار ۲۴ ساعته در طول مدت جمع‌آوری، نمونه در یخچال $8-2^{\circ}\text{C}$ نگهداری شود.
- پایداری نمونه سرم و ادرار در دمای اتاق ($15-25^{\circ}\text{C}$) تا ۸ ساعت، در دمای یخچال ($8-2^{\circ}\text{C}$) تا یک هفته و در فریزر (20°C -) تا یک ماه می باشد.
- برای حفظ پایداری نمونه، pH ادرار باید با استفاده از چند قطره اسید کلریدریک در حدود ۲ تنظیم شود.
- هنگام اندازه‌گیری، ادرار باید به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر با خلوص بالا رقیق گردد (به‌عنوان مثال، ۱ میلی لیتر ادرار به همراه ۱۰ میلی لیتر آب مقطر). عدد به دست آمده باید در ۱۱ ضرب شود تا نتیجه نهایی به دست آید.
- از آلوده شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

نحوه آماده‌سازی ریجنت‌ها:

**ریجنت‌ها به صورت آماده قابل استفاده 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 طراحی شده است.
- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

- دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول موج مناسب را انتخاب کنید.
- درون کووت‌های مجزا ۱۰۰۰ μl ریجنت را با ۱۰ μl از نمونه، کالیبراتور و کنترل مخلوط نموده سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 37°C انکوبه نمایید.
- دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر کنید.
- خوانش جذب نوری را انجام دهید.
- پس از اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها و استاندارد برای محاسبه از فرمول زیر استفاده کنید.

کیت تشخیص کمی کلسیم دی آزما طب

محتویات کیت: Reagent (1 x 100 ml)

کاربرد: تعیین کمی کلسیم در سرم و پلاسما حاوی هیپارین و ادرار در آزمایشگاه‌های بالینی

مقدمه: کلسیم به سه شکل در پلاسما وجود دارد: کلسیم آزاد، کلسیم متصل به پروتئین و کلسیم متصل به آنیون‌هایی مانند فسفات، سیترات و بی کربنات. تقریباً ۵۰٪ کلسیم پلاسما به صورت آزاد و ۴۵-۴۰٪ آن متصل به پروتئین بوده و ۱۰٪-۵٪ آن به صورت متصل به آنیون‌ها می باشد. باید توجه داشت که فقط کلسیم آزاد دارای فعالیت بیولوژیک می باشد، اما کلسیم خون به شکل توتال اندازه‌گیری می شود. از این رو برای تفسیر مناسب سطح کلسیم، باید سطح پروتئین سرم نیز در نظر گرفته شود. میزان کلسیم در هایپوپاراتیروئیدی، بیماری‌های استخوانی و مسمومیت با ویتامین D افزایش و در نارسایی کلیه، هیپوپاراتیروئیدی، سوء جذب و کمبود ویتامین D کاهش می یابد. در مجموع برای بررسی عملکرد غدد پاراتیروئید، کلیه‌ها، متابولیسم کلسیم و بعضی از بدخیمی‌ها از تست کلسیم استفاده می شود.

اساس آزمایش: Colorimetric (Arsenazo III)

در این آزمایش، یون‌های کلسیم در حضور رنگ‌زای Arsenazo III یک کمپلکس رنگی بنفش-آبی تشکیل می دهند. میزان تغییر رنگ متناسب با غلظت کلسیم در نمونه است.

اجزا و غلظت معرف‌ها:

| Reagent | concentration |
|------------------------------------|-----------------------|
| Phosphate buffer | 70 mmol/L |
| 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonic acid | 7 mmol/L |
| Arsenazo III | 150 $\mu\text{mol/L}$ |

پایداری و نگهداری محصول:

- * در دمای $8-2^{\circ}\text{C}$ تا تاریخ انقضا درج شده بر روی محصول قابل استفاده می باشد.
- * یخزدگی، قرار گرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می گردند.

مواد و تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش:

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

شرایط آزمایش:

- طول موج مناسب: ۶۳۰ نانومتر (۶۵۰ - ۶۰۰)
- دمای مناسب: 37°C

عوامل مداخله‌گر

- تری گلیسرید: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 2000 mg/dL
- هموگلوبین: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 500 mg/dL
- بیلی‌روبین: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 30 mg/dL
- اسید آسکوربیک: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 30 mg/dL
- منیزیم: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 12 mg/dL

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 10 μl سرم فیزیولوژی یا آب مقطر است.
- (۲) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل تغییر 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:

| | | | |
|------------------------|-----|-------------------------------|-----|
| هشدار | | شرایط نگهداری ۲-۸ درجه سلسیوس | |
| تاریخ انقضاء | | شماره ساخت | LOT |
| تاریخ تولید | | دستورالعمل استفاده | i |
| قابل مصرف در آزمایشگاه | IVD | تولیدکننده | |
| | | شماره کاتالوگ | REF |

محاسبات:

$$\frac{\text{Abs Sample}}{\text{Abs Standard/Cal}} \times C \text{ Standard/Cal} = \text{ca (mg/dl)}$$

جهت اندازه‌گیری کلسیم در ادرار راندم یا در ادرار ۲۴ ساعته باید نمونه ادرار را به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق نموده و مقدار به‌دست‌آمده را در ۱۱ ضرب نمایید.

$$\frac{\text{Abs Sample}}{\text{Abs Standard/Cal}} \times C \text{ Standard/Cal} \times 11 = \text{ca (mg/dl)}$$

$$\frac{\text{Urine ca (mg/dl)} \times \text{Urine Volume (ml)}}{100} = \text{urine ca (mg/24h)}$$

ضریب تغییر واحد:

$$\text{Ca (mg/dl)} \times 0.2495 = \text{Calcium (mmol/l)}$$

دامنه مرجع:

| حد مطلوب | نمونه |
|--|-------|
| 8.5 to 10.3 mg/dl | سرم |
| Men < 300 mg/24h Women < 250 mg/24h | ادرار |

نتایج عملکردی و کارایی کیت:

خطی بودن: با این روش مقدار کلسیم تا 15 mg/dl خطی اندازه‌گیری می‌شود. نمونه‌های با غلظت بالاتر از 15 mg/dl را به نسبت ۱ واحد نمونه با ۲ واحد سرم فیزیولوژی رقیق نموده و جواب‌ها را در عدد ۳ ضرب نمایید.

حساسیت: حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری 0.5 mg/dl می‌باشد.

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

| Ca mean (mg/dl) | Within-run (CV%) | Between-run (CV%) |
|-----------------|------------------------------|------------------------|
| 8.82 | 1.12 | 1.85 |
| 12.13 | 0.45 | 0.94 |
| | n ¹ =20 replicate | n ¹ =4 runs |

مقایسه روش‌ها:

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

$$Y=0.9768X + 0.1825, \quad r^2=0.9938$$