کیت سنجش Uric Acid

(Uricase-PAP)

REF: PA17001-500 R 5 x 100
REF: PA17001-200 R 2 x 100
ISO: 13485:2016

مقدمه:

اسید اوریک از شکسته شدن ترکیباتی بنام پورین در بدن ایجاد می شود . پورین در بدن بصورت طبیعی از متابولیسم مواد پروتئینی خصوصا نوکلئوپروتئین ها بوجود می آید و همچنین در بعضی از مواد غذایی و نوشیدنی ها وجود دارد (مانند جگر ، ماهی موتو ، ماهی خال مخالی ، لوبیا ، نخود فرنگی و ماءالشعیر) . اسید اوریک تولید شده در بدن بسرعت از طریق دستگاه ادراری و همچنین بخشی نیز از طریق دستگاه گوارشی بصورت روزانه دفع می گردد .

هایپر یوریکمی (Hyperuricemia) یا افزایش میزان اسید اوریک سرم در بیماری‌ها مانند: نقرس (Gout) ، بیماریهایی که با افزایش متابولیسم نوکلئوپروتئین ها همراه می باشد (مولتی پل میلوما، لوسمی و پلی سایتمی) ، هیپوتیروئیدیسم و همچنین اشکال در عمل کرد کلیه ها مانند بیماری مزمن کلیوی (CKD) دیده می‌شود.

هیپو یوریکمی (Hypouricemia) یا کاهش میزان اسید اوریک سرم در اثر سوء مصرف داروهای کنترل کننده اسید اوریک ودر سوء تغذیه و تغذیه کم پروتئین دیده می‌شود.

روش : **Uricase-PAP**

اصول آزمایش:

اسید اوریک بوسیله آنزیم اوریکاز به آلانتوئین وآب اکسیژنه تبدیل شده که در اثر پراکسیداز در مجاورت آمینوآنتی پیرین و دی کلرو فنل سولفونات (DCPS) به کینون قرمز رنگ تبدیل میشود. رنگ حاصل متناسب با غلظت اسید اوریک میباشد .

$$\text{Uric Acid} + 2H_2O + O_2 \xrightarrow[\text{Phosphate Buffer pH 8.7}]{\text{Uricase}} \text{Allantoine} + CO_2 + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-Aminoantipyrine} + \text{DCPS} \xrightarrow{\text{Peroxidas}} \text{Red Quinone} + 4H_2O$$

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	Phosphate Buffer pH 7.4	50 mmol/L
	DCPS*	4.0 mmol/L
R2	4-Aminoantipyrine	1 mmol/L
	Uricase	60 U/L
	Peroxidase(POD)	660 U/L
	Ascorbate Oxidase	200 U/L

***2-4 DichloroPhenol Sulfonate**

نمونه مورد آزمایش:

سرم تازه بدون همولیز، پلاسمای هپارینه یا □□□□ . نمونه‌ها در دمای ۲۵ -۱۵درجه سانتیگراد برای مدت سه روز و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد برای مدت پنج روز و در فریزر در منهای ۲۰ درجه برای مدت ۶ ماه پایدار هستند. اگر بیمار تحت درمان با داروی ضد اسید اوریک میباشد قبل از نمونه گیری به مدت حداقل ۱۲ ساعت با صلاح دید پزشک معالج باید مصرف دارو قطع شود .

نمونه ادرار ۲۴ ساعته این نمونه مدت ۲ روز در دمای ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتیگراد با ۸ > □□ و در دمای۲ تا ۸درجه سانتیگراد ۴ روز و در دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد ۳ هفته پایدار میباشد. برای تنظیم □□ ادرار از سود ۰/۰۱ نرمال استفاده نمایید . اگر ادرار پس از جمع آوری، کدورت داشت ، آنرا قبل از آزمایش سانتریفوژ کنید . اگر ادرار، کدورت ناشی از اوره از داشته باشد ، به مدت۱۵ دقیقه آنرا در دمای ۶۰درجه سانتیگراد قرار دهید تا رسوبات اوره از و اسید اوریک در ادرار مجدداً حل شود.

آماده سازی محصول:

تهیه محلول برای حالت دو محلول جدا از هم(Substrate Start) : معرفهای R1 و R2 بصورتی که جداگانه مورد استفاده قرار گیرند (Substrate Start)آماده مصرف میباشند.

تهیه محلول کار آماده برای تک محلول (Sample Start): بسته به نیاز ۱ قسمت از معرف R1 را با یک قسمت از معرف R2 مخلوط نمایید، پایداری این محلول کار ۱ روز در دمای ۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد و ۷ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد میباشد. محلول را دور از نور نگهداری نموده و از آلوده شدن آن خودداری شود.

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر
۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۵۰۰ تا ۵۵۰ نانومتر
۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد (۰/۱ درجه سانتیگراد)
۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده
۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی
۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه
۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر (میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

نگهداری و پایداری:

- معرفها در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویالها پایدار می باشند، مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند. پایداری معرف کار بروی اتوآنالایزرهای مجهز به سیستم سردکننده ۷ روز و یا ۱روز در دمای اتاق ۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد است و با تغییر هر لات کالیبراسیون تجدید شود.
- از یخ زدگی معرفها پرهیز شود .
- معرفها (R2 و R1) را دور از نور نگهداری نمایید .
- کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک بیشتر از 0.10 در طول موج ۵۲۰ نانومتر میگردند که از علائم تخریب معرف میباشد.

روش انجام آزمایش:

پارامترها: **دما**: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۵۲۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل بلانک معرف / **نوع واکنش**: کاهشی

تک محلول: Sample Start

نمونه	۲۰ میکرولیتر
محلول کار آماده	۱۰۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن ۵ دقیقه در دمای ۷۳ درجه سانتیگراد یا ۰۱ دقیقه در دمای ۵۲ درجه سانتیگراد انکوبه کرده، سپس جذب نوری نمونه ها را مقابل بلانک معرف در ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری نمائید. پایداری رنگ ۰۶ دقیقه دور از نور مستقیم میباشد.	

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

ضریب تبدیل واحد معمول (conventional) به واحد بین المللی(SI) و بلعکس :

1 mg/dL = 0.0595 mmol/L 1 mmol/L = 16.811 mg/dL

Conventional unit mg/dl	
SI unit mmol/L	

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 20.0 mg/dL

حساسیت: 0.05 mg/dL

توجه:

- نمونه های بیش از 20 mg/dL را به نسبت ۱ +۱ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl رقیق نموده ، آزمایش راتکرار و نتیجه را در عدد ۲ ضرب نمایید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپت های شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=1.0024X - 0.0128$ $R^2=0.9990$

۳- **دقت:**

طلساده شده نسبت ضریب تبدیل mg/dl به mg/L
غلظت کلسیم در ادرار و ضریب تبدیل میلی لیتر
به لیتر حجم ادرار

INTRA ASSAY (WITHIN RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	4.21	0.07	1.65
Sample II	8.84	0.09	1.12

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	4.16	0.21	2.45
Sample II	8.81	0.38	2.31

3. Tietz N., Fundamentals of clinical chemistry Philadelphia W.B. Saunders 335-337, 1976
4. Henry. R.J; Clinical Chemistry: Principles and Techniques NY, Harper and Row, Second Edition (1974).
5. Young D.S.,Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests,AACC 5thed.2000
6. Morin.L.G., Clin.Chem.20:51(1974).
7. Schultz A.Uric acid.Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
8. Fossati Pet al. Clin Chem 1980;26:277-231

دو محلول: Substrate Start

نمونه	۲۰ میکرولیتر
معرف R1	۵۰۰ میکرولیتر
مخلوط کرده، برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید سپس معرف R2 اضافه شود:	
معرف R2	۵۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد یا ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه کرده، سپس جذب نوری نمونه‌ها را مقابل بلانک معرف در ۵۲۰ نانومتر اندازهگیری نمائید. پایداری رنگ ۶۰ دقیقه دور از نور مستقیم میباشد.	

✓ پارامترهای این کیت برای آنالیزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

محاسبه با استفاده از کالیبراتور:

$$\text{Serum Uric Acid (mg/dl)}_{\text{In Serum}} = \frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \cdot \text{St. Conc.}$$

جهت اندازه گیری اسید اوریک در ادرار راندم یا در ادرار ۲۴ ساعته باید نمونه ادرار را به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق نموده و مقدار بدست آمده را در ۱۱ ضرب نمایید پس فرمول محاسبه بصورت زیر برای .

ادرار راندم:

فاکتور رقت

$$\text{Urine Uric Acid (mg/dl)}_{\text{In random Urine}} = \frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \times 11 \times \text{St. Conc.}$$

ادرار ۲۴ ساعته :

$$\text{Urine 24hr Uric Acid (mg/24hr)}_{\text{In 24hr Urine}} = \frac{\text{Urine UA (mg/dl)} \times \text{Urine Volume (ml)}}{100}$$

ساده شده نسبت ضریب تبدیل mg/dl به mg/L
غلظت اسید اوریک در ادرار و ضریب تبدیل میلی لیتر
به لیتر حجم ادرار

مقادیر طبیعی:

بزرگسالان:		دامنه مرجع معمول بزرگسال درادرار ۲۴ ساعته		
مردان	(3.5-7.2) mg/dl	مردان	250-800 mg/24hr	
زنان	(2.6-6.0) mg/dl	زنان	250-750 mg/24hr	
کودکان	(2.0-5.5) mg/dl	Free-Purine diet <420 mg/24h	Low-Purine diet <480 mg/24h	High-Purine diet <1000 mg/24h

* توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.*

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

تداخلات :

بیلی روبین تا ، 40 mg/dl هموگلوبین تا 100 mg/dl ، تری گلیسرید تا 1000 mg/dll و اسید آسکوربیک تا 5 mg/dl تاثیری بر نتیجه آزمایش ندارند.

REFERENCES:

1. Davidsohn.L., and Henry, J.B, Todd-Sanford Clinical Diagnosis by Laboratory Method, 15th ed.W.B.Saunders Company, Philadelphia,PA(1974) .
2. Caraway. W.T., Clin. Chem.4:239 (1963).