ZiestChem Diagnostics

ISO 13485:2003

ADA Assay kit

(Adenosine Deaminase)

REF 10-544 **ISO 13485:2003** **IVD**

جهت‌اندازه‌گیری‌فعالیت‌آنزیم ADA درسرم،پلاسما،CSFوPleural انسان‌به‌روش‌دستی‌ودستگاهی

اهمیت کلینیکی:

ADA آنزیمی است که واکنش‌دی‌آمیناسیون آدنوزین به اینوزین را یک طرفه کاتالیز می‌کند. این آنزیم بطور گسترده در بافت‌های بدن و عمدتاً در لنفوسیت T پخش شده است. افزایش فعالیت این آنزیم در بیماری‌هایی مانند: هپاتیت حاد ، مزمن و فعال، هپاتیت ویرال، سیروز کبدی و هپاتوم (تومورکبد) و نیز بیماریهایی مانند سل، تیفوئید، آرتریت روماتوئید، بروسلوز، سارکوئیدوز و لوسمی ALL مشاهده می‌گردد. اندازه‌گیری ADA همراه با تست‌های دیگر کبد مانند: ALT و GGT ارزش ویژه‌ای در تشخیص بیماریهای کبد دارد. از موارد مهم اندازه‌گیری ADA بررسی فعالیت آن در مایع CSF و مایع پلور است که با حساسیت بسیار زیاد، اجازه تشخیص بیماری سل را می‌دهد. کاهش ADA در حدود یک چهارم کودکان مبتلا به بیماری SCI (Severe combined immunodeficiency) دیده شده است.

روش: KINETIC/UV

اساس روش:

این کیت بر اساس یک روش آنزیمی تهیه شده است که در آن سوبسترای آدنوزین به اینوزین تبدیل شده و آمونیاک آزاد می‌گردد. در مرحله دوم آمونیاک در مجاورت آلفا کتوگلوتارات و NADPH توسط آنزیم گلوتامات دهیدروژناز به گلوتامات و NADP تبدیل می‌گردد. کاهش جذب متناسب با مقدار ADA نمونه می‌باشد و در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری میشود.

$$\text{Adenosine} + H_2O \xrightarrow{ADA} \text{Inosine} + NH_4^+$$

$$NH_4^+ + \alpha\text{-Ketoglutarate} + NADPH \xrightarrow{GDH} \text{L-Glutamate} + NADP^+$$

معرف‌ها:

Presentation	Content	Storage
R1: ADA Enzyme reagent	1×50 ml	2-8°C
R2: ADA Substrate reagent	Powder*(for 10ml)*	2-8°C

شرایط نگهداری:

معرف‌ها در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویالها پایدار می‌باشند، مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند. پس از هر بار استفاده درب ویالها را بسته و به یخچال انتقال دهید. پس از باز نمودن بمدت ۳۰ روز پایدار می‌باشند.

آماده سازی معرف‌ها: معرف R1 آماده مصرف میباشد. جهت آماده سازی R2 ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ریال آن افزوده خوب مخلوط کنید تا یکنواخت شود. پایداری این معرف ۴ هفته در یخچال و ۲روز دردمای‌اتاق است.توصیه میشود پس از مصرف بلافاصله درب ویال را بسته و به یخچال انتقال یابد.

یادداشت:

۱- میتوان حجم نمونه و معرف را به تناسب تغییر داد تا با هر نوع فتومتر قابل خوانش باشد.

۲- نمونه‌های بیش از 40 U/L را با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl به نسبت ۱+۱ رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد ۲ ضرب نمایید.

۳- بیلی‌روبین تا 20 mg/dl>، هموگلوبین تا 200 mg/dl>، تری‌گلیسرید تا 750 mg/dl < و اسیدآسکوربیک تا 4 mg/dl> در این آزمایش تداخل ندارند.

۴- با توجه به پائین بودن مقدار آنزیم ADA به خصوص در CSF می‌بایست حجم نمونه را تا **یک سوم حجم معرف R1 افزایش داد.**

نمونه مورد آزمایش: سرم تازه بدون همولیز، پلاسما با سدیم هپارین و یا EDTA و CSF و Pleura. مطلقا از آمونیوم هپارین و نمک‌های فلوراید استفاده نشود. پایداری ADA در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته می‌باشد. کلیه نمونه‌های مورد آزمایش مانند: سرم، پلاسما، CSF و Pleura میبایست عاری از همولیز باشند.

CSF: نمونه را بلافاصله سانتریفیوژ و جدا نمایید. نمونه در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته و در دمای فریزر به مدت ۱ ماه پایدار می‌باشد.

Pleural: نمونه را بلافاصله سانتریفیوژ و جدا نمایید. نمونه در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته و در دمای فریزر به مدت ۱ ماه پایدار می‌باشد. نمونه میبایست شفاف باشد.

پارامترها:

دما: ۳۷ درجه سانتیگراد / طول موج: ۳۴۰ نانومتر/ کووت:۱سانت / حجم نمونه: ۲۰۰ میکرولیتر / حجم معرف: ۱۲۰۰ میکرولیتر / خوانش: مقابل آب مقطر یا هوا / نوع واکنش: کاهشی.

روش‌اندازه‌گیری‌دستی:	بلانک معرف	کالیبراتور	نمونه
نمونه /کالیبراتور	-	۲۰۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر
آب مقطر	۲۰۰ میکرولیتر	-	-
معرف R1	۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر
به آرامی مخلوط نموده، ۳ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کرده جذب نوری بلانک، کالیبراتور و نمونه‌ها را مقابل آب مقطر خوانده و یادداشت نمائید. (A1)			
معرف R2	۲۰۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر
مخلوط‌کرده، ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و **راس ۵ دقیقه** جذب‌ها را مجدداً خوانده و یادداشت نمائید. (A2)			

✓**پارامترهای این کیت برای آنالیزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی زیست‌شیمی تماس حاصل فرمائید.**

محاسبه:

$$\textbf{ADA}\ (U/L) = \frac{(A1\text{-}A2)_{sample} - (A1\text{-}A2)_{blank}}{(A1\text{-}A2)_{Calib.} - (A1\text{-}A2)_{blank}} \times Calb.conc.$$

مقادیر طبیعی:

سرم یا پلاسما:	6.8-25 U/L
CSF:	0.0-1.5 U/L
Pleural:	0.0-8.4 U/L

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از کنترلهای Zitrol ADA Level I&II و کالیبراسیون دستگاه از Zitcal ADA زیست شیمی استفاده نمود، که به صورت جداگانه عرضه میشود.

خصوصیات علمی کیت:

ماکزیمم حد سنجش:	40 U/L
حساسیت:	3.0 U/L

صحت : در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه r = 0.967

دقت:

WITHIN - RUN (n=20)

	Mean(U/L)	S.D.(U/L)	CV %
Sample I	8.2	0.28	2.54
Sample II	120	6.90	0.84

BETWEEN - Day (n=20)

	Mean(U/L)	S.D.(U/L)	CV %
Sample I	8.3	0.38	2.92
Sample II	121	7.6	1.02

REFERENCES:

1. Kallkan A., Bult V., E REL O., Avci S., and Bingol N. K, Adenosine Deaminase and guano sine Deaminase activities in sera of patients with viral hepatitis. Mem Inst. Osvaldo Cruz 94(3) 383-386 (1999)

2. Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux l, et al. Use of adenosine Deaminase as a diagnostic tool for tuberculosis pleurisy. Thorax 50:672-674 (1995)

Ver.08/2016

ZiestChem Diagnostics. Tehran, Iran

Tel: 88964604-88964141 Fax: 88968238 Email:info@Ziestchem.com

زیست شیمی: تهران، بلوار کشاورز، نبش خیابان بهرام نادری، شماره ۲۱ کد پستی: ۱۴۱۶۶۳۳۹۹۴

تلفن: ۸۸۹۶۴۱۴۱-۸۸۹۶۴۶۰۴ فکس: ۸۸۹۶۸۲۳۸