کیت سنجش Amylase

(CNPG3/Kinetic)

REF: PA15001-50 R 1 x 50 mL

ISO: 13485:2016

مقدمه:

آنزیم آلفا آمیلاز توسط بخش برون ریز پانکراس (exocrine) یا همان لوزالمعده و غدد بزاقی ترشح میشود که به همین ترتیب به شکل دو تیپ ایزو آنزیم اصلی P(Pancreatic) یا پانکراتیک و S(Salivary) یا بزاقی وجود دارد. این آنزیم هیدرولیز نشاسته و گلیکوژن را تسریع میکند و پیوند آلفا ۱و۴ گلیکوزیدی را در این ترکیبات و پلی ساکاریدهای مشابهه شکسته و هیدرولیز میکند که باعث تولید مالتوز و الیگوساریدمی شود .

افزایش فعالیت این آنزیم در بیماریهای غده پانکراس ، انسداد مجرای پانکراتیک ، کتو اسیدوز دیابتیک ، گلومرونفریت حاد ، سنگ کلیه ، بیماریها و التهاب غدد بزاقی ، پارگی کیسه آمنیون در بارداری ، اوریون (mumps) و آپاندیسیت حاد دیده میشود . فعالیت آنزیم در پانکراتیت حاد بین ۲ تا ۱۲ ساعت افزایش یافته و طی ۱۲ تا ۷۲ ساعت به بیشترین مقدار خود می رسد .

روش : CNPG3/Kinetic

اصول آزمایش:

اندازه گیری فعالیت مستقیم آنزیم آمیلاز با هیدرولیز ماده کروموژن CNPG3 که در واقع از اتصال ۲- کلرو -۴- نیتروفنل با گالاکتومالتوزید (Galactomaltoside) ساخته شده است انجام می شود در این هیدرولیز ۵۹ درصد ۲-کلرو-۴- نیتروفنل (CNP: 2-Chloro-4-NitroPhenol) از ترکیب جدا میشود ، همچنین ۲ - کلرو - ۴ - نیتروفنیل - آلفا - دی - مالتوزید (CNPG2: 2-Chloro-4-NitroPhenyl-α-D-maltoside)-مالتوتریوز (G3: Maltotriose) و گلوکز (G: Glucose) نیز ایجاد میشود . با اندازه گیری مقدار CNP تولید شده که نسبت مستقیم با فعالیت آنزیم دارد و تغییرات جذب در واحد زمان در طول موج ۴۱۰-۴۰۵ نانومتر امکان محاسبه فعالیت آنزیم فراهم می شود .

$$10\ \text{CNPG3} \xrightarrow[\text{MES Buffer pH 6.0}]{\alpha\text{-Amylase}} 9\text{CNP} + \text{CNPG2} + 9\text{G3} + \text{G}$$

CNPG3 (2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltotrioside)
CNPG2 (2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltoside
CNP (2-Chloro-4-Nitrophenol)
G3 (Maltotriose)
G (Glucose)

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R	MES Buffer * pH 6.0	100 mmol/L
	CNPG3**	2.25 mmol/L
	Calcium Acetate	6 mmol/L
	Sodium Chloride	350 mmol/L
	Potassium Thiocyanate	900 mmol/L
	Sodium Azide	0.095 mmol/L

*** 2-N-Morpholino ethanesulfonic acid monohydrate**
**** 2-Chloro-4-Nitrophenyl-α-D-Maltotrioside**

نمونه مورد آزمایش:

سرم: سرم تازه بدون همولیز یا پلاسمای هپارینه. مواد ضد انعقاد: سیترات ،اگزالات، فلوراید یا EDTA باعث مهار آنزیم میشوند و نباید مورد استفاده قرار بگیرند. پایداری آمیلاز در سرم در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد بمدت ۱ ماه و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای مدت ۶ ماه میباشد.

ادرار: درنمونه ادرار ابتدا باید pH آنرا بر روی ۷ تنظیم کرد و در صورت داشتن کدورت آنرا سانتریفوژ نموده و مایع شفاف رویی را نگهداری نمود ، این مایع در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد بمدت ۱ ماه پایدار می باشد.

آماده سازی محصول:

معرف آماده مصرف می‌باشد.

- کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک بیشتر از 5.0 در طول موج ۴۰۵ نانومتر میگردند که از علائم تخریب معرف میباشد

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر

۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۴۰۵ 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:

- معرف در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویال پایدار می باشد، مشروط بر اینکه درب ویال بسته و آلوده نگردد. پایداری معرف بروی اتوآنالایزرهای مجهز به سیستم سردکننده یا یخچال ۱۵ روز و یا ۲ روز در دمای اتاق ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد است.
- از یخ زدگی معرفها پرهیز شود .
- معرف را دور از نور نگهداری نمایید .

روش انجام آزمایش:

پارامترها: دما: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۴۰۵ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل هوا یا آب مقطر / **نوع واکنش**: افزایشی

نمونه	۲۰ میکرولیتر
معرف	۱۰۰۰ میکرولیتر

پس از مخلوط نمودن مقدار جذب نوری را در ۴۰۵ نانومتر بعد از ۱ دقیقه اندازه گیری نمایید، کرونومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۲،۱ و۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین نمایید. ΔA/min

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

محاسبه با استفاده از کالیبراتور:

$$\alpha\text{-Amylase (U/L)} = \frac{\Delta A\text{Sample/min.}}{\Delta A\text{Cailb./min.}} \times \text{Calib. Conc.}$$

تهران ، میدان توحید ، خیابان توحید ، بن بست آزادی ، پلاک ۳ ، واحد ۱

پشتیبانی فنی: ۶۶۵۹۶۳۸۸-۰۲۱

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 :

1U/L = 0.0167 µkat/L **1 µkat/L = 60 U/L**

Conventional unit U/L	SI unit µkat/L (micro katal*/liter)

***Katal (نماد: kat):** کاتال واحد فعالیت کاتالیزوری در سیستم بین المللی واحدها (SI) است. این یک واحد SI مشتق شده برای تعیین کمیت فعالیت کاتالیزوری آنزیم ها (یعنی اندازه گیری سطح فعالیت آنزیمی درهنگام فعالیت تجزیه سوبسترا) و سایر کاتالیزورها است.

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 1500 U/L

حساسیت: (0.006 ΔmA/min per U/L) 2.0 U/L

توجه:

- نمونه های بیش از 1500 U/L را به نسبت۱ +۱۰ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد۱۱ 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

$y=0.9894X + 0.7143$ $R^2=0.9804$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

	Mean (U/L)	S.D. (U/L)	CV%
Sample I	174	1.51	0.87
Sample II	443	2.98	0.68

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (U/L)	S.D. (U/L)	CV%
Sample I	169	2.74	1.62
Sample II	428	4.97	1.16

محاسبه : فاکتور برای نمونه سرم یا پلاسما $\alpha\text{-Amylase (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 2520$

با توجه به دستگاه اسپکتروفتومتر در هر آزمایشگاه و مقدار خطای سیستمیک دستگاه ممکن است مقدار **فاکتور تغییر کند.**

مقادیر طبیعی:

سرم :	(up to 96) U/L
ادرار راندم :	(up to 480) U/L
ادرار ۲۴ ساعته :	(up to 410) U/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 ، 25 mg/dl هموگلوبین تا 200 mg/dl ، تری گلیسرید تا 1000 mg/dl ، اسیداسکوربیک تا 30 mg/dl تاثیری بر نتیجه آزمایش ندارند.

REFERENCES:

Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4nitrophenyl .
. maltrotrioside as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147

McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St .
. Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116

, Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press .
. 1995

. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001 .

. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999 .

.Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

تهران ، میدان توحید ، خیابان توحید ، بن بست آزادی ، پلاک ۳ ، واحد ۱ **پشتیبانی فنی: ۶۶۵۹۶۳۸۸-۰۲۱**