



# شرکت افلاک طب هگمتانه

## کیت تشخیص کمی زینک در سرم و پلاسما با روش های دستی و دستگاهی

### اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.ZIN01.99.075
حجم محلول:	R1: 3 x 20 mL R2: 3 x 5 ml

### مقدمه (1):

روی عنصر مهمی است و در بیش از 300 واکنش آنزیمی داخل سلولی دارای عملکرد می باشد و کوفاکتور بسیاری از متالوآنزیم ها است، از جمله کربنیک انهدراز گلبول های قرمز، آلکالین فسفاتاز، و بسیاری از آنزیم های درگیر در سنتز و ترمیم RNA و DNA. همچنین روی در ساختمان بسیاری از پروتئین ها و نیز در کنترل بیان ژنتیکی نقش کلیدی بازی می کند و برای رشد و تقسیم سلول ها، به ویژه در مراحل نوجوانی، نوزادی، بارداری، سرطان و سوختگی لازم است. علائم بالینی کمبود روی در کاهش عملکرد سیستم ایمنی، اسهال، سرعت التیام زخم، توقف رشد جنین، صفات ثانویه جنسی مشاهده می شود. کمبود روی با مصرف کم یا افزایش از دست دادن همراه است و در بیماری های کلیوی، بیماری های دستگاه گوارش، بیماری های کبدی و سوء مصرف الکل دیده می شود.

### اساس آزمایش (2):

در pH: 9.8، به صورت مستقیم (بدون حذف پروتئین) و در حضور ماسک کننده فلزات مانند مس، کبالت، نیکل و آهن، روی به طور اختصاصی با کروموژن 5-Br-PAPS تشکیل کمپلکس قرمز رنگ می دهد و در طول موج 546 nm اندازه گیری می شود. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با غلظت روی در نمونه است.

### ریجننت ها:

محتویات و مقادیر: (براساس محلول آماده شده برای کار)

### معرف شماره یک

Carbonate-Bicarbonate Buffer (pH:9.8)	200	mmol/L
5-Br-PAPS	0.05	mmol/L
Sodium Citrate	170	mmol/L
Dimethylglyoxime	4	mmol/L

### معرف شماره دو

Salicylaldoxime	29	mmol/L
-----------------	----	--------

### آماده سازی:

4 حجم از محلول R1 را با 1 قسمت از محلول R2 مخلوط کنید. همچنین می توانید 1 بطری از محلول شماره 2 را مستقیماً داخل یک بطری شماره 1 ریخته مخلوط کنید.

### شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف ها تا تاریخ انقضای مندرج روی کیت، در صورتی که در دمای 2 تا 8 درجه سانتی گراد نگهداری شوند و از آلودگی جلوگیری شود، پایدار هستند. معرف ها را منجمد نکنید و از نور محافظت کنید. معرف آماده به کار (Working reagent) به مدت 2 هفته پایدار است

### بهداشت، ایمنی و دفع مواد زائد:

جهت حذف و دور ریز تمام پسماندها طبق الزامات قانونی و SOP آزمایشگاه انجام شود. برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمایید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید. به دلیل وجود سدیم آزاید از تماس معرفها با پوست و چشم خودداری کنید.

### نکات ضروری:

تمام وسایل مصرفی قبل از استفاده باید با اسید کلریدریک 4 نرمال، ابتدا اسید واش شده، 3 بار با آب دیونیزه آبکشی شود و سپس استفاده شود.

### نمونه ها (3,4):

نمونه سرم عاری از همولیز، پلاسما هیپارینه، ادرار و مایع منی.

از استفاده از پلاسما حاوی EDTA اجتناب شود.

نمونه مایع منی را 10 دقیقه با دور 3000 r.p.m سانتریفیوژ کنید سپس از قسمت بالایی نمونه برداشته و آن را به نسبت 1 به 100 با سرم فیزیولوژی 9 g/L رقیق کنید. در نهایت نتیجه را در عدد 100 ضرب کنید.

جهت جمع آوری نمونه ادرار 24 ساعته نیازی به افزودن مواد نگهدارنده نیست. در صورتیکه اندازه گیری روی نمونه ادرار 24 ساعته طی 4 ساعت پس از جمع آوری نمونه انجام نشود از مواد نگهدارنده زیر استفاده می شود:

50% Acetic Acid 25mL per 24hr, 6M Hydrochloric Acid 30 mL per 24hr, 6M Nitric Acid 15 mL per 24hr.

پس از جمع آوری نمونه ادرار چند قطره HCl به نمونه اضافه کنید و pH نمونه را به 2 برسانید، سپس سانتریفیوژ کنید. از مایع بالایی برداشته و آن را به نسبت 1 به 10 با سرم فیزیولوژی 9 g/L رقیق کنید. در نهایت نتیجه را در عدد 10 ضرب کنید.

نمونه	پایداری نمونه ها		
	پخچال (روز)	دمای اتاق (روز)	فریزر (روز)
سرم/پلاسما	28	28	28
ادرار 24hr	28	28	28
مایع منی	...	1	...

### روش انجام آزمایش:

طول موج: 570 nm (λ main) - 700 nm (λ sub)  
 دما: 25/37 °C  
 قطر کووت: 1 cm  
 نسبت نمونه/ معرف: 1/20

دستگاه را در مقابل بلانک صفر کنید

نمونه	استاندارد	بلانک	
آب مقطر (μL)	-	50	
استاندارد (μL)	50	-	
نمونه (μL)	-	-	50
معرف کاری (μL)	1000	1000	1000

مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه آنکوباسیون در 37 درجه سانتی گراد و یا 10 دقیقه در 25 درجه سانتی گراد جذب نوری نمونه و استاندارد را در مقابل بلانک اندازه گیری کنید. رنگ ایجاد شده تا 60 دقیقه پایدار است.











عوامل مداخله گر<sup>(9)</sup>:

Additive		Serum with additive	
Name	Final concentration	Zinc concentration (µg/dL)	Interference %
Triglycerides	None	82.1	
	200 (mg/dL)	82.3	0
	400	80.5	-2
	500	80.4	-2
	600	67.6	-18
	800	66.3	-19
	1000	52.4	-36
Bilirubin Total	None	82.1	
	5 (mg/dL)	81.7	0.0
	10	82.1	0.0
	15	81.5	-0.7
	20	83.2	1.3
	25	87.5	6.6
	30	99.1	20.7
Ascorbic Acid	None	82.1	
	50 (mg/dL)	82.2	0.1
	100	82.4	0.4
	200	82.3	0.2
	500	82.4	0.4
	750	91.6	11.6
	1000	94.1	14.6

مراجع:

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book. Elsevier Health Sciences; 2012 Oct 14.
2. Tetsuo M, Saito M, Horiguchi D, Kina K. A highly sensitive colorimetric determination of serum zinc using water-soluble pyridylazo dye. Clinica chimica acta. 1982 Mar 26;120(1):127-35.
3. <https://www.mayocliniclabs.com>
4. Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4<sup>th</sup> Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006).
5. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
6. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
7. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—. Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
8. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSI EP9-A2, (2002).
9. Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

علائم:

	Temperature limitation		Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
	Batch code		Date of manufacture
	In vitro diagnostic medical device		Reagent 1
	Consult instruction for use		Reagent 2

محاسبات:

$$\Delta A: (A \lambda \text{ main} - A \lambda \text{ sub})$$

در سرم و پلاسما:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ STD/Cal}} \times \text{Conc. STD/Cal Zn } (\mu\text{g/dL}) = \text{Conc. Zn } (\mu\text{g/dL})$$

در ادرار 24 ساعته:

$$\text{Urine 24hr } (\mu\text{g/24 hr}) = [(\text{Urine Zinc } (\mu\text{g/dL}) \times \text{Urine Volume (ml)}) / 100] \times 10$$

در مایع منی:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ STD/Cal}} \times \text{Conc. STD/Cal Zn } (\mu\text{g/dL}) \times 100 = \text{Conc. Zn } (\mu\text{g/dL})$$

ضریب تبدیل واحد:

$$\text{Zinc } [\mu\text{g/dL}] \times 0.153 = \text{Zinc } [\mu\text{mol/L}]$$

دامنه مرجع<sup>(3, 4)</sup>:

واحد	دامنه مرجع	سن	نمونه
µg/dL	50-100		سرم
	64-110		نوزاد
	70-120		کودکان افراد بالغ
µg/day	150-1200	24 hr	ادرار
µg/dL	2000-10000		مایع منی

هر آزمایشگاه محدوده مرجع خود را تعیین نماید.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی و کالیبراسیون می توانید از کنترل ها و کالیبراتورهای بیوشیمی تجاری استفاده کنید.

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری<sup>(5, 6)</sup>:

Measuring Range: 6-400 µg/dL

Limit Of Blank (LOB): 1.3 µg/dL

Limit Of Detection (LOD): 3.0 µg/dL

Limit Of Quantification (LOQ): 6.0 µg/dL

غلظت های بالاتر از 400 µg/dL را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 1 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/2) و جواب آزمایش در عدد 2 ضرب شود.

دقت<sup>(7)</sup>:

	n	Mean (µg/dL)	Within Run CV%	Total CV%
Low	80	62	1.1	1.6
Normal	80	135	0.8	1.6
High	80	235	0.3	0.8

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر در دمای 37 °C انجام شده است.

مقایسه روش ها<sup>(8)</sup>:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت روی شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری روی (X) روش 5-Br-PAPS، بر روی 50 نمونه بیمار با محدوده غلظت 38-179 µg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)= 0.9912

Linear regression: Y= 1.007 (x) – 1.8 µg/dL