

Urinary Citrate

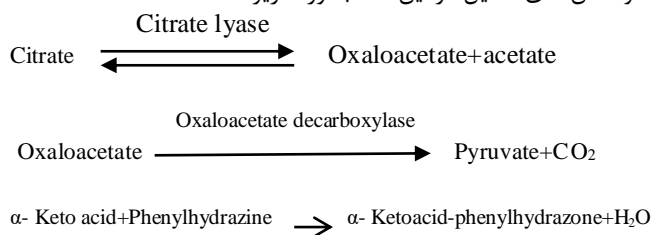
Enzymatic Manual Method

مقدمه :

اسید سیتریک یک واسطه مهم در متابولیسم است. در انسان متابولیسم و دفع این ماده در کلیه ها صورت می گیرد و حضور آن در ادرار باعث جلوگیری از تشکیل کریستالهای نمک کلسیم می گردد. هیپوسیتراوریا در بیماران calcium nephrolithiasis مشاهده شده است. سیترات هم از طریق مکانیسم کنترل سطحی به منظور ممانعت از تشکیل و تجمع کریستالها و هم از طریق تشکیل کمپلکس محلول پایدار با کلسیم عمل می کند. لذا تشخیص کلینیکی سیترات ابزار مهمی در تشخیص میزان اشباع ادرار از اگزالات کلسیم و فسفات میباشد.

اصول متد:

واکنش های دخیل در این متد بصورت زیر است :



اثر آنزیم سیترات لیاز بر سیترات ایجاد یک α کتو اسید (یا دو α -کتو اسید در صورت وجود اگزالاتات دکربوکسیلاز در محیط) مینماید که این α -کتواسیدها سریعاً با فنیل هیدرازین در pH تقریباً اسیدی واکنش داده و فنیل هیدرازین تولید میکند. ترکیب ایجاد شده دارای جذب در طول موج 340 nm می باشد که میزان آن متناسب با غلظت سیترات است.

معرف ها:

1. بافر تریس 25 ml
 2. معرف آنزیمی لیوفیلیزه 5 vials
 3. فنیل هیدرازین (این محلول در یخچال و جای تاریک نگهداری شود) 1 ml
 4. استاندارد اسیدسیتریک (200 mM) 5 ml
- توجه: در صورت تشکیل کریستال در محلول قبل از استفاده چند دقیقه در حرارت 37 °C قرار دهید.

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف های مذکور در صورتی که دور از آلودگی و تابش مستقیم نور در یخچال نگهداری شوند تا تاریخ مندرج روی آنها پایداری دارند. از فریز نمودن محلول ها خودداری شود.

هشدارها:

بدلیل استفاده از سدیم آزید جهت پایدار نمودن محلول ها از نوشیدن و تماس محلول ها با پوست خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود. همچنین رعایت کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول ها الزامی است.

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد:

در مورد دفع مواد زائد در صورت وجود قوانین تدوین شده طبق قانون موجود عمل شود.

طرز تهیه معرف ها:

1- تهیه معرف آنزیمی (Working): به هر ویال آنزیمی شماره 2 200 μ l از بافر شماره 1 اضافه نمائید. (این محلول به مدت یک روز در یخچال پایدار است.)

2- تهیه محلول فنیل هیدرازین (رقیق شده): مقدار 25 μ l از فنیل هیدرازین موجود در کیت (محلول شماره 3) را به 1 ml آب مقطر اضافه نمائید. تهیه این محلول به علت ناپایداری باید دقیقاً قبل از انجام آزمایش صورت گیرد.

3- تهیه استاندارد: 2Mm: قبل از انجام هر آزمایش 100 μ l از محلول شماره چهار را با آب مقطر به حجم 10ml برسانید.

کالیبراتورها و کنترل ها:

جهت کالیبراسیون از استاندارد سیترات و جهت کنترل از کنترلهای شرکت درمان فراز کاو استفاده گردد.

نمونه: ادرار

طرز کار: سه لوله آزمایش را با T و S و B علامت بزنید و مطابق جدول زیر عمل نمائید:

B	S	T	
20 μ l	20 μ l	20 μ l	فنیل هیدرازین رقیق شده
-	-	20 μ l	نمونه ادرار 24 ساعته تازه تهیه شده
-	20 μ l	-	استاندارد 2 میلی مولار
20 μ l	-	-	آب مقطر

مخلوط نموده و به مدت 15 دقیقه در حرارت اتاق انکوبه و بعد به هر لوله به مقدار 1 ml بافر تریس (شماره 1) اضافه نمایید و جذب نمونه ها A_{1T}, A_{1S}, A_{1B} را در طول موج 340 nm در مقابل آب مقطر قرائت نمایید.

در مرحله بعد 50 μ l از محلول آنزیمی تهیه شده به لوله های تست و استاندارد اضافه کرده و مدت 15 دقیقه در حرارت اتاق قرار دهید سپس جذب ثانویه A_2 (A_{2T}, A_{2S}, A_{2B}) نمونه ها را در مقابل آب مقطر قرائت نمایید. (قرائت جذب پس از این زمان تا حدود 30 دقیقه نیز امکان پذیر است.)

$$\Delta A_S = A_{2S} - A_{1S}, \Delta A_T = A_{2T} - A_{1T}, \Delta A_B = A_{2B} - A_{1B}$$

$$\text{حجم ادرار 24 ساعته (لیتر)} \times 2 \times \frac{\Delta A_{\text{Test}} - \Delta A_{\text{Blank}}}{\Delta A_{\text{Std}} - \Delta A_{\text{Blank}}} = \text{غلظت سیترات ادرار (mmol/24h)}$$

جهت تبدیل mmol/24h به mg/24h نتیجه رادر عدد 192 ضرب نمایید.

محلول مداخله گر :

پیروات و اگزالو استات تا غلظت دو میلی مولار باعث تداخل در آزمایش سیترات نمی شود.

دقت (precision) :

با استفاده از ادرار نتایج زیر در حرارت 25 °C حاصل شده است.

Within run, n=20	Sample1	Sample2	Sample3
Mean (mmol/L)	1.62	2.51	3.66
SD (mmol/L)	0.063	0.079	0.084
CV%	3.88	3.18	2.29

Between run, n=18	Sample1	Sample2	Sample3
Mean (mmol/L)	1.71	2.91	3.80
SD (mmol/L)	0.103	0.101	0.083
CV%	4.85	3.48	2.81

ویژگی های آنالیتیک کیت :
محدوده اندازه گیری:

این کیت جهت اندازه گیری سیترات در محدوده 0.08 تا 7 میلی مول در لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار سیترات بیش از 7 میلی مول در لیتر باشد رقیق و آزمایش دوباره تکرار گردد و نتیجه در ضرب رقت ضرب گردد.

حساسیت :

حداقل مقدار سیترات قابل اندازه گیری 0.08 mmol/L می باشد

مقادیر نرمال:

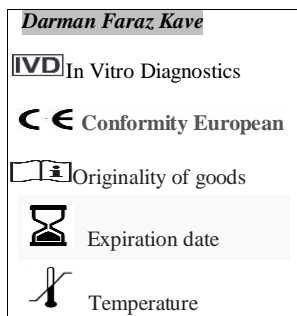
1.4-4.3 mmol/24h

به منظور مقایسه با متدهای معتبر تعداد 60 نمونه ادرار بیمار را با متد درمان فراز کاو (Y) و یک متد معتبر خارجی (X) مورد آنالیز قرار داد که نتیجه زیر به دست آمد.

$$Y = 0.98(X) + 0.089 \quad ; \quad r = 0.986$$

References:

1. Petrarulo M. *et. al.* Clin. Chem. , 41/10 , 1518-1521, 1995.
2. Darman faraz Kave Res. Lab. Isfahan , Iran . 2014.



لطفا در صورت نیاز با شماره تلفن های 52374132 ، 031-52374707 تماس حاصل فرمائید.
آدرس : اصفهان ، شهرک صنعتی سه راه مبارکه، فاز چهارم ، خیابان دهم ، پلاک 7، شرکت درمان فراز کاو
شماره فاکس : 031-52374254

E.mail : info@darmanfarazkave.com
WWW.darmanfarazkave.com

