طرح درسی آزمایشگاه بیوشیمی

شعبه بین المللی ارس، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تهیه و تنظیم: داود قلی زاده

آشنایی با وسایل آزمایشگاهی:

ظروف مدرج:

پی پت: برای برداشت حجم های مختلف و نسبتاً کم از پی پت استفاده می شود. با انگشت شست و سه انگشت آخر پی پیت را به صورت عمودی گرفته و به وسیله انگشت نشانه دهانه آنرا باز و بسته می کنند.

انواع پی پت ها:

از دو نوع پی پیت غیر اتوماتیک در آزمایشگاه بیوشیمی معمولاً استفاده می شود. یک نوع آن را مامور می نامند که حجم نهایی پی پت نزدیک به نوک آن نوشته شده است و نوع دیگر پی پت سرولوژیک است که حجم نهایی آن با فوت کردن در پی پیت بدست می آید.

تمرین: سر پی پت را در یک ظرف آب قرار دهید و انتهای دیگر را در دهان قرار داده و تا قدری بالاتر از خطر صفر بالا بکشید سپس نوک پی پت را به ظرف آب چسبانده و آب را به آرامی خارج کنید تا دقیقاً سطح مقعر آب (**خط مینیسک) درست روی صفر قرار گیرد، سپس آهسته انگشت خود را از دهانه بالای پی پت جدا کنید. ملاحظه می شود که آب از پی پت جاری می شود. چندین بار حجم های مختلف از پی پت خارج کنید تا تسلط لازم را برای انجام کارهای آزمایشگاهی بعدی را به دست آورید.**

با توجه به اینکه انواع پی پت با اندازه های مختلف در دسترس شما قرار دارند از پی پتی استفاده کنید که حجم کل آن به حج برداشتی شما نسبتاً نزدیک باشد. مثلاً برای برداشت حجم های ۲-۱/۵ میلی لیتر از پی پت ۲ میلی لیتری استفاده کنید.

پی پت اتوماتیک یا سمپلر

در آزمایشگاههای تشخیص طبی و مجهز که آزمایشهای دقیق انجام می شود معمولاً از پی پت اتوماتیک استفاده می شود. این نوع پی پت ها دو نوع هستند: یا حجم ثابتی را برداشت می کنند و یا قابل تنظیم بوده و حجم های مختلف را منتقل می نمایند. نوک این پی پت ها پلاستیکی است و پس از مصرف معمولاً دور انداخته می شود.

پی پتور

دستگاه بسیار ساده ای است که حاوی یک مخزن مایع و یک پی پت دو راهه است. به طوری که با کشیدن پیستون مایع از یک راه وارد پی پت شده و اگر مجدداً به پیستون فشار آوریم مایع از راه دیگر خارج می شود. از پی پتور برای سرعت عمل و انتقال یک حجم معین از یک مایع مخصوص و معمولاً سمی استفاده می شود.

بورت:

ساختمان بورت تفاوت چندانی با پی پت ندارد بعبارت دیگر بورت، پی پتی است که در انتهای تحتانی آن شیر وجو دارد و انتهای فوقانی آن ممکن است قدری گشادتر باشد و مایع را به عوض اینکه با دهان بالا بکشند، از بالا وارد بورت می کنند.

طرز کار: قبل از کار شیر را امتحان کنید. باید به آن به اندازه کافی روغن زده شده باشد به طوری که به آسانی شیر قدرت چرخش داشته باشد. بعد شیر را ببندید و مایع را مستقیماً و یا به کمک قیف با احتیاط در بورت بریزید. سعی کنید تا قدری بالاتر از عدد صفر مایع را وارد کنید. سپس آهسته شیر را باز کرده تا خط مینیسک بر روی درجه صفر قرار گیرد. سپس با باز کردن شیر می توانید حجم های مورد نظر خود را به تدریج در ظرفهای مختلف وارد کنید. معمولاً از بورت برای روش های حجم سنجی و تیترایسون استفاده می شود.

استوانه مدرج (مزور)

استوانه ای است پایه دار با حجم های مختلف که از آن می توان برای برداشت و انتقال حجم های بزرگتر استفاده کرد. علاوه بر استوانه مدرج، لیوان مدرج نیز وجود دارد که بیشتر برای نقل و انتقال حجم تقریبی مایعات مورد استفاده قرار می گیرد و کمتر به عنوان ابزار حجم سنجی دقیق مورد استفاده واقع می شود.

بالن ژوژه

بالنی است با گردن بسیار باریک و دراز که بر روی قسمتی از آن خطی قرار دارد که حجم دقیق بالن را مشخص می کند. این ظرف عمدتاً در محلول سازی و به حجم رساندن محلول ها و نیز رقیق سازی آنها مورد استفاده قرار می گیرد.

ب: ظرف غیر مدرج

ارلن

از ارلنی که بیشتر بنام **ارلن مایر** خوانده می شود معمولاً برای مخلوط کردن و حتی نگهداری مایعات استفاده می شود. ارلن مایر ظرف مخروطی با گردن نسبتاً باریک در حجم های مختلف است.

بالن ته گرد

در واقع یک نوع ارلن با ته گرد است و معمولاً برای تقطیر مورد استفاده قرار می گیرد.

بشر

ظرف شیشه ای استوانه ای دهان گشادی است که معمولاً به منظور مخلوط کردن و تهیه مواد لازم برای آزامیش مورد استفاده قرار می گیرد. به علت دقت کم در اندازه گیری و نیز دهانه گشاد، از آن به هیچ برای حجم سنجی و یا نگهداری مواد استفاده نمی شود.

لوله آزمایش:

لوله هایی در اندازه های مختلف هستند که ته آنها بسته و گرد است. جدا سازی سرم و انجام آزمایش به طور معمول در آنها صورت می گیرد.

وسایل غیر شیشه ای

چراغ گاز

گاه برای انجام آزمایش لازم است محتویات یک ظرف یا لوله آزمایش را حرارت دهند. در این صورت از چراغ گاز آزمایشگاهی که وسیله بسیار ساده ای است، استفاده می شود (قبلاً از چراغ الکلی به این منظور استفاده می شد.) دقت کنید که اگر می خواهید محتویات یک ارلن یا بشر را حرارت دهید آن را مستقیماً بر روی شعله قرار ندهید. بلکه ابتدا بر روی چراغ گاز یک سه پایه

بگذارید و روی سه پایه یک توری فلزی که بر روی آن خمیر نسوز چسبیده است قرار دهید. این عمل کمک می کند تا شعله به خوبی در زیر ظرف پخش شود. ضمناً هنگام حرارت دادن لوله آزمایش به توری و سه پایه احتیاج نیست ولی لازم است که از گیره چوبی یا وسیله مناسب دیگری استفاده کنید و مرتباً لوله را تکان داده تا حرارت کاملاً پخش شود. همواره سر لوله را دور از خود یا همکاران نگه دارید، چرا که ممکن است در اثر حرارت محتویات لوله، به بیرون پرتاب شود.

دستگاه ها

در طول مدتی که در آزمایشگاه بیوشیمی کار خواهید کرد به تدریج با دستگاه های مختلفی چون pH متر، اسپکتروفتومتر، نورسنج شعله ای و غیر آشنا خواهید شد که به طور مفصل در فصل های مربوط توضیح داده شده اند.

آزمایشات ادرار

نقش مهم کلیه ها تولید ادرار است

کلیه ها اندام های تخصص یافته ای هستند که دو عامل مهم یعنی حذف مواد زاید حاصل از متابولیسم و حفظ ثبات محیط داخلی بدن (حفظ تعادل آب، pH، تعادل یونی و فشار اسمزی) را به عهده دارند و هر دوی این اعمال عمدتاً از طریق تولید ادرار انجام می شوند. گرچه کلیه ها اعمال دیگری چون کمک به تکثیر گویچه های سرخ (از طریق تولید لریتروپوئیتین) و سنتز هورمون کلسی تریول دارند ولی در این قسمت تنها نقش آنها در تولید ادرار مورد بررسی قرار می گیرد.

واحد عملی کار کلیه نفرون است

عمل تولید ادرار در کلیه ها در واقع به وسیله واحد های کوچکی به نام نفرون صورت می گیرد. در هر کلیه حدود یک میلیون نفرون وجود دارد هر نفرون از یک گلومرول (شبکه مویرگی) و یک لوله نسبتاً طویل ساخته شده است که قسمت های مختلف آن نام های متفاوتی دارند.

ابتدا پلاسما از طریق شبکه مویرگی و کپسول بومن به داخل نفرون فیلتره می شود و پس از باز جذب مواد لازم و ترشح بعضی مواد دفعی در لوله فوق بتدریج ادرار تشکیل می گردد. از آنجا که در واقع ادرار بر اثر تغییر مایع حاصل از تصفیه خون (اولترافیلتره) به وجود می آید و نیز از آنجا که خون در ارتباط با انواع سلول های بدن است، بنابراین ترکیب ادرار می تواند اطلاعاتی در مورد خون و عملکرد سلولهای مختلف بدهد. از طرف دیگر در صورتی که کلیه ها عملکرد طبیعی نداشته باشند، اطلاعات مفیدی را می توان از طریق آزمایش ادرار بدست آورد. به همین دلیل

آزمایشات متعددی بر روی ادرار انجام می شود که از نظر تشخیص می تواند کمک شایان توجهی به پزشک بنماید.

آزمایش ادرار را می توان بر روی ادرار ۲۴ ساعته، تصادفی و یا ادرار صبح انجام داد

ادرار ۲۴ ساعته

نظر به اینکه دقع مواد در ادرار در ساعات مختلف شبانه روز متفاوت است بررسی ادرار ٢٤ ساعته اطلاعات جامعی را در اختیار می گذارد ولی امروزه با توجه به اینکه جمع آوری آن پر زحمت است بررسی ادرار ٢٤ ساعته تنها منحصر به موارد محدودی مانند اندازه گیری دفع پروتئین ٢٤ ساعته و یا بررسی متابولیت های بعضی از هورمون ها و یا اندازه گیری دفع پاره ای بونها شده است.

ادرار تصادفی

در مورد بعضی از آزمایشات مانند آزمایش تشخیص حاملگی می توان از ادرار تصادفی استفاده کرد. به عبارت دیگر هر ساعتی از شبانه روز که بیمار به آزمایشگاه مراجعه نماید، ادرغار او آزمایش می شود.

ادرار صبح

آنچه که در آزمایشگاهها به طور روزمره آزمایش می شود، اولین ادرار پس از بیدار شدن از خواب شبانه است. در طول شب ادرار به آرامی در مثانه جمع می شود و به همین دلیل نسبتاً یکنواخت و غلیظ است حسن دیگر آزمایش این ادرار آن است که صبح که بیمار ناشتا است و برای آزمایش خون مراجعه می کند همان موقع ادرار هم گرفته می شود.

مجموعه آزمایش هایی که به طور روزمره بر روی ادرار انجام می شود به نام « کامل ادرار» خوانده می شود

این آزمایش خود به سه گروه تقسیم می شوند، آزمایشهای فیزیکی، آزمایشهای شیمیایی و آزمایشهای میکروسکپی.

الف: آزمایشهای فیزیکی را آزمایشهای ماکروسکپی نیز می نامند و خود شامل:

بررسی ظاهر، رنگ، بو، حجم، دانسیته و pH است.

۱– ظاهر ادرار:

ادرار طبیعی شفاف است . وجود املاح زیاد، اورات ها و یا چرک در ادرار می تواند باعث کدورت ادرار شود.

طبیعی: شفاف

غیر طبیعی: نیمه کدر، کدر

۲– رنگ ادرار

رنگ ادرار طبیعی زرد کهربایی است که عمدتاً بدلیل وجود یوروکروم ها و در حد کمتری بدلیل وجود یوروبیلین و یورواریترین است. وجود خون تازه یا هموگلوبین منجر به قرمزی رنگ ادرار می شود در حالی که خون کهنه آنرا دودی رنگ می کند. هر دوی این وضعیت ها نشانه خونریزی کلیه یا مجاری ادراری – تناسلی است.

املاح صفراوی رنگ ادرار را زرد پر رنگ، سبز یا قهوه ای می کنند که نشانه بیماری های کبدی یا مجاری صفراوی است.

رنگ قهوه ای پررنگ ممکن است بدلیل وجود اسید هموژانتیزیک باشد که در بیماری آلکاپتونوری از طریق ادرار دفع می شود. بعضی داروها یا مواد رنگی نیز می توانند باعث تغییر رنگ ادار شوند (ویتامین B_2 رنگ ادرار را زرد پررنگ و آنتوسیانین موجود در چغندر رنگ انرا قرمز می کند).

نحوه گزارش:

طبیعی: زرد

غیر طبیعی: زرد پر رنگ، قهوه ای ...

۳- بوی ادرار

ادرار تازه کمی بوی آروماتیک می دهد به هر حال توضیح بو نسبتاً مشکل است به طوری که بعضی محققین می گویند ادرار طبیعی بوی ادرار می دهد، در اسیدوز دیابتی به دلیل وجود دکتواسیدها و استن ادرار بوی میوه می دهد و در بیماری شربت افرا بوی قند سوخته از ادرار استشمام می شود. اگر نمونه ادرار کهنه باشد و یا در آن میکروب پروتئوس وجود داشته باشد بوی شدید آمونیاک از ادرار ساطع می شود. بوی گندیگی می تواند نشانه تجزیه ادرار توسط باکتری ها باشد (خواه به علت نگهداری طولانی آن خارج از یخچال و یا بدلیل وجود عفونت میکروبی). در بیماری فنیل کتونوری ادرار بوی موش می دهد.

نحوه گزارش

طبیعی: طبیعی

غیر طبیعی: بوی آمونیاک. بوی قند سوخته ...

۴- حجم ادرار ۲۴ ساعته

کلیه مهمترین اندام در تنظیم آب تام بدن و میزان مواد محلول در خون است و بدین طریق باعث تنظیم اسمولالیته پلاسما می شود.

علیرغم آنکه حجم ادرار دفع شده در ۲٤ ساعت نسبتاً متغیر است و بستگی به عواملی چون مقدار مایعات یا نمک دریافتی، درجه حرارت، میزان تعریق، کنترل هورمونی، وجود مواد مدار در رژیم غذایی و ... دارد، ولی تغییر شدید آن می تواند نشانه ای از بیماری های مختلف باشد.

به طور متوسط میزان دفع ادرار یک میلی لیتر در دقیقه یا حدود ۱۵۰۰ میلی لیتر در ۲٤ ساعت است. علیرغم اینکه میزان تولید ادرار نسبت به هر کیلوگرم وزن در کودکان بیشتر از بالغین است ولی بدلیل کوچکی جثه میزان ادرار ۲٤ ساعته در آنها کمتر است.

کاهش دفع ادرار **اولیگوری** و قطع کامل آن **آنوری** خوانده می شود. افزایش دفع کلی ادرار را **پلی یوری** و افزایش دفع شبانه آن را **نوکتوری** می نامند.

اولیگوری ممکن است بدلیل مشکلات غیر کلیوی مانند کاهش فشار خون، شوک، خونریزی یا کمی دریافت مایعات باشد در این صورت به آن « الیگوری پیش کلیوی» گفته می شود. ممکن است بدلیل وجود سنگ یا تومورهایی که میزنای را تحت فشار قرار می دهند و یا هیپروتروفی پروستات باشد که به آن « الیگوری پس کلیوی» می گویند و بالاخره ممکن است اولیگوری بدلیل مشکلات کلیوی مانند نکروز شدید لوله های ادراری، وجود بعضی سموم، بیماری عروقی کلیه، رسوب بعضی مواد در کلیه باشد که این حالت « اولیگوری کلیوی» نامیده می شود. الیگوری شدید می تواند منجر به قطع کامل ادرار یا آنوری شود.

پلی یوری ممکن است بدلیل ترشح مقدار زیادی مواد محلول باشد که دفع اجباری آب را به همراه خواهد داشد. مثلاً بعد از دریافت مقدار زیادی نمک و یا وجود قند زیادی در ادرار (در مرض

قند)، پلی اوری رخ می دهد. پلی یوری ممکن است در اثر کمبود یا فقدان هورمون ADH بروز کند.

نوکتوری: بر حسب تعریف به دفع بیش از ۵۰۰ میلی لیتر ادرار با وزن مخصوص کمتر از ۱/۰۱۸ در شب در یک فرد بالغ نوکتوری گفته می شود.

بررسی وجود قند در ادرار

قند (گلوکز) به دلیل کوچکی اندازه به آسانی بدرون نفرون ریخته می شود و با توجه به اینکه آستانه باز جذب گلوکز به طور متوسط ۱۸۰ میلی گرم درصد است و میزان قند خون به طور متوسط ۱۰۰ میلی گرم درصد است، باز جذب آن به طور کامل صورت می گیرد. اگر میزان قند خون فردی از ۲۰۰-۱۸۰ میلی گرم درصد بالاتر رود باز جذب به طور کامل صورت نمی گیرد، بنابراین قند در ادرار یافت می شود که با این شرایط **گلی کوزوری** گفته می شود.

یکی دیگر از علل گلی کوروزی کاهش آستانه باز جذب کلیوی است. بدین معنی که ناقلین گلوکز به طور طبیعی عمل خود را انجام نمی دهند این بیماری بنام **دیابت کلیوی** خوانده می شود. بدین ترتیب ملاحظه می گردد که در حالی که قند خون طبیعی است، قند در ادرار دیده می شود.

گاهی قندهای دیگری در ادرار دیده می شوند که وجود آنها در ادرار نشانه بیماریهای دیگری غیر از دیابت شیرین یا دیابت کلیوی است به عنوان مثال در فردی که دچار بیماری گالاکتوزمی است، به دلیل افزایش گالاکتوز در خون، در غادرار نیز این ماده دیده می شود، همچنین در بیماری فروکتوزوری، فروکتوز در ادرار دیده می شود. در این صورت آزمایشات دقیق تری مانند کروماتوگرافی باید صورت گیرد تا نوع قند دفع شده مشخص گردد.

به کمک آزمایش بندیکت وجود قند در ادرار بررسی می شود

اساس آزمایش: همانگونه که در فصل پنجم ملاحظه کردید مونوساکاریدها در محیط قلیایی باعث احیا مس دو ظرفیتی (محلول آبی رنگ) به مس یک ظرفیتی (رسوب قرمز نارنجی) می شوند.

نحوه آزمایش: ۳ میلی لیتر معرف بندیکت را در یک لوله آزمایش بلند بریزید و به آن ۰/۵ میلی لیتر ادرار اضافه کرده و به مدت ۱۰-۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار دهید. پس از سرد شدن به رنگ مخلوط و میزان رسوب توجه کنید.

نحوه گزارش: اگر رنگ محلول تغییری نکرد آزمایش منفی است (قند وجود ندارد) و به ترتیب رنگهای سبز تا نارنجی پررنگ به صورت +۱ تا + ٤ نشان می دهند.

مقدار طبیعی: قند ادرار طبیعی منفی است.

بررسی وجود پروتئین در ادرار

روزانه ۱۵۰-۵۰ میلی گرم پروتئین در ادرار افراد طبیعی دفع می شود. مقداری از این چروتئین مربوط به آلبومینی است که در گلومرول فیلتر شده و باز جذب نشده است و بقیه مربوط به گلی کوپروتئین هایی است که از اپی اتلیوم مجاری ادراری – تناسلی جدا شده اند. غلظت پروتئین در ادرار طبیعی کمتر از ۱۰ میلی گرم درصد است و این مقدار در حدی است که از طریق روش های روزمره آزمایشگاههای تشخیص طبی قابل اندازه گیری نیست.

دفع غیر عادی پروتئین در ادرار پروتئینوری خوانده می شود

وجود پروتئین در حدی که با روش های روزمره قابل آزمایش باشد را پروتئینوری می نامند و معمولاً نشانه آسیب غشاء گلومرولی است. بدین ترتیب که در اثر چنین آسیبی، پروتئین ها از مویرگ وارد لوله ادراری می شوند و چون به طور طبیعی مکانیسمی جهت باز جذب آنها وجود ندارد، در ادرار دیده می شوند. گاهی پروتینوری ممکن است گذار و صرفاً به دلیل یک تب شدید

بروز کرده باشد. همچنین اگر فرد به مدت طولانی ایستاده یا در حال فعالیت باشد نیز دچار پروتئینوری خفیفی می شود که به آن پروتئینوری ناشی از ایستادن می گویند. ولی با توجه به اینکه معمولاً آزمایش کامل ادرار بر روی نمونه ادرار صبح انجام می شود، از این جهت می توان انتظار تداخل را نداشت.

بکمک آزمایش رسوب با سولفوسالی سیلیک وجود پروتئین در ادرار بررسی می شود.

اساس آزمایش همانگونه در فصل ششم ملاحظه کردید اسید سولفوسالی سیلیک باعث رسوب پروتئین ها می شود.

نحوه آزمایش: به حدود ۳ میلی لیتر ادرار ۱ میلی لیتر اسید سولفوسالی سیلیک (۳ درصد) به آرامی و از کناره دیواره لوله اضافه کنید. ایجاد یک حلقه سفید رنگ در محل تماس اسید و ادرار نشانه وجود پروتئین است. برای آنکه بطور نیمه کمی مقدار پروتئین را گزارش کنید محتوی لوله را خوب بهم بزنید و پس از یک دقیقه با توجه به کدورت لوله جواب ها را به صورت نیمه کمی گزارش نمائید.

نحوه گزارش: اگر هیچ کدورتی وجود نداشته باشد آزمایش منفی است (پروتئین وجود ندارد) اگر رسوب بزحمت قابل تشخیص باشد Trace و با افزایش رسوب جواب را به صورت + ۱ تا +٤ نشان دهید.

مقدار طبیعی: پروتئین ادرار طبیعی منفی است.

کیت تشخیص کمی GLUCOSE (GOD) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

کاربرد اصلی اندازه گیری شناسایی و کنترل درمان بیماران مبتلا به دیابت است. از دیگر موارد اندازه گیری گلوکز می توان شناسایی هیپوگلسیمی در نوزادن، سرطان غده پانکراس و اروپایی متابولیسم کربوهیدرات ها در بیماری مختلف را نام برد.

اساس آزمایش:

در این آزمایش آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز فنون و ٤-آمینوآنتی پیرین در مجاورت آنزیم پر اکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتو متریک قابل اندازه گیری است با مقدار گلوکز رابطه مستقیم دارد.

$$Glu\cos e + O_2 \underrightarrow{GOD} Gluconiccd + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4 - A\min oantipyrine + Phenol \underrightarrow{POD} \varphi uinonei\min e + H_2O$$

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	٢٠ λ	–	–
استاندارد	–	٢٠ λ	–
سرم	–	–	٢٠ λ
معرف	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$$\frac{ODT}{ODS} \times ١٠٠ = {mg}/{dl}$$

نرمال ٧٠ – ١١٠

پس از مخلوط نمودن تا ٢٠ دقیقه در دمای محیط و یا ١٠ دقیقه در دمای ٣٧ درجه سانتیگراد انکوبه نموده و حداکثر طی ٦٠ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی CHOLESTEROL (CHOD) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

کلسترول جزو اصلی ساختمان غشاهای سلولی و بیش سازی برای هورمون های استروئیدی و اسیدهای صفراوی است، در سلولهای سنتز می گردد و از طریق مواد غذایی نیز جذب بدن می شود کلسترول توسط لیپوپروتئین ها که مجموعه ای از لپیدها و آپولیپوپروتئین ها هستند حمل می شود.

لیپوپروتئین ها به چهار دسته تقسیم می شوند، لیپوپروتئین های با چگالی پایین (LDL)، با چگالی بسیار پایین (VLDL)، با چگالی بالا (HDL) و شیلو میکرون ها.

LDL نقص انتقال کلسترول به داخل نسوج و HDL عمل برداشت کلسترول از نسوج را به عهده دارد در مطالعات انجام شده رابطه نزدیکی میان LDL بالا در سرم افراد و بیماری رگ های کرونر قلبی و سایر انواع آرترو اسکلروز مشاهده شده است. حتی در مواردی که مقدار کلسترول نرمال باشد نیز بالا بودن LDL نشانگر بالا بودن خطر ابتلا به بیماریهای فوق است.

HDL برخلاف LDL عمل حفاظت و پیش گیری را از طریق برداشت کلسترول از نسوج به عهده داشته و بالا بودن HDL باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی می شود. در حالیکه پایین بودن سطح HDL حتی در صورت نرمال بودن کلسترول باعث افزایش خطر ابتلا به بیماریهای فوق می باشد.

بنابراین اندازه گیری کلسترول تنها جهت غربالگری بیماران به کار می رود، در حالیکه برای تخمین احتمال وقوع حمله قلبی اندازه گیری HDL و LDL ضروری است.

مطالعات کلینیکی انجام شده در سال های اخیر نشان داده اند که رژیم های مناسب غذایی تغییر الگوهای رفتاری (از جمله ورزش و ترک سیگار و دوری از استرس) و همچنین استفاده از داروهای پایین آورنده سطح کلسترول و LDL می توانند خطر ابتلا به بیماریهای قلبی و عروقی را بشدت کاهش دهند.

اساس آزمایش:

در این آزمایش پر اکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول به همراه فنول و ٤- آمینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پر اکسید از تشکیل کینونیمین می دهیم میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه گیری است با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد.

$$cholesterolesder + H_2O \xrightarrow{CHE} cholesterol + fatty\ acid$$

$$cholesterol + O_2 \xrightarrow{CHO} cholesterol - 3 - one + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 - A\min oantipyrin + phenol \xrightarrow{POP} quinonei\min e + 4H_2O$$

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	٢٠ λ	–	–
استاندارد	–	٢٠ λ	–
سرم	–	–	٢٠ λ
معرف	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$\frac{ODT}{ODS} \times ٢٠٠ = ؟\ mg/dl$

نرمال ٢٠٠>

پیش آگهی ٢٤٠ -٢٠٠

غیر نرمال ٢٤٠>

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦٠ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی TRIGLYCERIDES (GO-PAP) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

تری گلیسیرید ها ترکیبات استری از گلیسرول و اسیدهای چرب هستند که در تشخیص و پیگیری اختلالات مربوط به لیپوپروتئین ها اهمیت زیادی دارند در پلاسما در اتصال با آپولیپوپروتئین ها به شکل VLDL و شیلومیکرون ها حمل می شوند و اندازه گیری آنها در پیش بینی خطر ابتلا به بیماری آرترواسکلروز، کنترل سطح چربی ها، بررسی درمان و عملکرد داروهای پایین آورنده سطح چربی ها حائز اهمیت است.

مطالعات اخیر نشان می دهد که افزایش سطح تری گلیسرید همراه با افزایش LDL در پلاسما با افزایش خطر ابتلا به بیماری های کرونر قلبی رابطه رابطه مستقیم دارد. همچنین بالا بودن سطح تری گلیسرید در بیماری های مختلف کبدی، کلیوی و پانکراتیک نیز دیده می شود.

اساس آزمایش:

در این آزمایش ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین از اسیدهای چرب جدا شده و سپس طی مراحل زیر، پراکسید هیدورزن آزاد شده از گلیسرول با ٤- آمینو آنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسید از تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه گیری است با مقدار تری گلیسرید رابطه مستقیم دارد.

$\underrightarrow{LPL}$ Triglycerides Glycerol + Fatty Acid

$\underrightarrow{GK}$ Glycerol + ATP Glycerol-3-phosphate+ADP

$\underrightarrow{GPO}$ Glycerol-3-phosphate+ O_2

Dihydroxyaceton phosphate+H_2O_2

2 H_2O_2 + Aminoantipyrine +4 –Chlorophenol $\underrightarrow{POD}$

Quinoneimine+ HCL + $4H_2O$

روش انجام کار:

طول مربع ٥٤٦ nm

$\frac{ODT}{ODS} \times ٢٠٠ = ؟ \ mg/dl$

نرمال ٢٠٠>

پیش آگهی ٢٤٠ –٢٠٠

غیر نرمال ٢٤٠>

	B	S	T
آب مقطر	٢٠ λ	–	–
استاندارد	–	٢٠ λ	–
سرم	–	–	٢٠ λ
معرف	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ	١٠٠٠ λ

پس از مخلوط نمودن تا ٢٠ دقیقه در دمای محیط و یا ١٠ دقیقه در دمای ٣٧ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦٠ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی CALCIUM (CPC) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

کلسیم نقش مهمی در بسیاری از فعالیت های سلولی ایفا می کند به صورت درون سلولی در انقباض ماهیچه ها و متابولیسم گلیکوژن، و به صورت برون سلولی در مینرالیزاسیون استخوان، انعقاد خون و انتقال پالس های عصبی نقش دارد.

کلسیم به سه شکل در پلاسما وجود دارد: ۱- کلسیم آزاد، ۲- کلسیم متصل به پروتئین، ۳- کلسیم متصل به آنیون هایی مانند فسفات، سیترات و بی کربنات.

کاهش غلظت کلسیم تام می تواند در ارتباط با بروز بیماری های استخوانی مخصوصاً پوکی استخوان، بیماری های کلیوی به خصوص در افراد دیالیزی، هیپوپاراتیروئیدیسم و اختلالات جذب روده ای باشد. افزایش میزان کلسیم تام در هیپرپاراتیروئیدیسم، تومورهای بدخیم و سارکودوزیس دیده می شود همچنین اندازه گیری کلسیم جهت بررسی ترکیبات کلسیمی و به منظور جلوگیری از بروز پوکی استخوان انجام می گیرد.

اساس آزمایش:

در این آزمایش در محیط قلیایی با Cresolphthalein Complexone تشکیل یک کمپلکس ارغوانی رنگ می دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار کلسیم در نمونه می باشد.

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	۲۰ λ	–	–
استاندارد	–	۲۰ λ	–
سرم	–	–	۲۰ λ
معرف	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

طول مربع ۵۷۰ nm

$\frac{ODT}{ODS} \times ۸ = ؟ \ mg/dl$

نرمال ۱.۳- ۸.٦

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦۰ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی URIC ACID (TOOS) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

اسید اوریک و نمک های آن محصول نهایی متابولیسم پورین هستند.

مهمترین بیماری که در اثر افزایش اسید اوریک ایجاد می شود نقرس است که در این بیماری افزایش اسید اوریک باعث تشکیل کریستالهای منوسدیم اورات در اطراف مفاصل می گردد.

همچنین مقادیر بالای اسید اوریک به عنوان یک ریسک فاکتور غیر مستقیم برای بیماری های کرونر قلبی محسوب می گردد.

بیماری های کلیوی، نقص در تصفیه کلیوی، استفاده از الکل، گرسنگی و استفاده از بعضی داروها می توانند باعث افزایش اسید اوریک شوند.

کاهش مقادیر اسید اوریک به ندرت در نواقص ارثی متابولیکی دیده می شود.

اساس آزمایش:

$$\text{Uricacid} \xrightarrow{} \text{Uric acid} + H_2O + O_2 \text{ Allantoin} + CO_2 + H_2O_2$$

$$\text{Toos} + 4\text{-Aminoantipyrine} + 2H_2O_2 \xrightarrow{POD} \text{Indamine} + 3\,H_2O$$

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	۲۰ λ	–	–
استاندارد	–	۲۰ λ	–
سرم	–	–	۲۰ λ
معرف	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده سپس معرف شماره ۲ را اضافه می کنیم

معرف شماره ۲	۲۵۰ λ	۲۵۰ λ	۲۵۰ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$$\frac{ODT}{ODS} \times ٦ = ? \; mg/dl$$

نرمال ۲.۳–٦.١

مردان ۸.۲ –۳.٦

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦۰ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی ALBUMIN در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

آلبومین یکی از مهمترین پروتئین های انتقال دهنده در پلاسما است که مواد گوناگونی را حمل می کند و اصلی ترین نقش را در فشار اسمزی پلاسما دارد.

اندازه گیری آلبومین سرم برای تشخیص و بررسی بیماری های کبدی مانند سیروز کبدی، انجام می شود. بعلاوه میزان آلبومین ملاکی برای تعیین سلامت و وضعیت تغذیه است و برای تشخیص سوء تغذیه و تعیین وضعیت تغذیه بیماران استفاده می گردد.

اساس آزمایش:

در این آزمایش آلبومین موجود در سرم با BROMOCRESOL GREEN (در PH اسیدی) یک کمپلکس رنگی سبز – آبی ایجاد می کند. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلبومین در نمونه می باشد.

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	۲۰ λ	–	–
استاندارد	–	۱۰ λ	–
سرم	–	–	۱۰ λ
معرف	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$$\frac{ODT}{ODS} \times ٤ = {}^{g}\!/_{dl}$$

نرمال ۳.۵–۵.۳

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦٠ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی UREA (Berthelot) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

اوره محصول نهایی نیتروژن دار کاتابولیسم پروتئین است. افزایش اوره در خون مربوط به ازتمی یا هایپراورمی است. تعیین میزان اوره و کراتیئین به طور همزمان برای تفکیک ازتمی پیش کلیوی و پس کلیوی انجام می شود.

ازتمی پیش کلیوی در نتیجه دهیدراتاسیون، افزایش کاتابولیسم پروتئین، درمان با کورتیزول و کاهش فیلتراسیون کلیوی ایجاد و باعث افزایش میزان اوره می گردد، در حالی که میزان کراتئین در محدوده مرجع باقی می ماند.

در ازتمی پس کلیوی که در نتیجه انسداد دستگاه ادراری ایجاد می گردد، مقادیر اوره و کراتئین هر دو افزایش می یابد. البته کراتیئین به میزان کمتری افزایش دارد.

در بیماری های کلیوی، غلظت اوره بر اثر کاهش فیلتراسیون گلومرولی و جذب پروتئین بیش از ۲۰۰ گرم در روز، افزایش می یابد.

اساس آزمایش:

در این آزمایش آمونیاک حاصل از هیدرولیز اوره توسط آنزیم Urease با هیپوکلریت و سالیسیلات سدیم؛ تشکیل یک ترکیب سبز رنگ می دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار اوره در نمونه می باشد.

	B	S	T	
آب مقطر	–	–	–	**روش انجام کار:**
استاندارد	–	۱۰ λ	–	
سرم	–	–	۱۰ λ	**طول مربع nm ۵۷۸**
محلول شماره ۱ و۲	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	$\frac{ODT}{ODS} \times ٦ = mg/dl$
پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده سپس معرف شماره ۳ را اضافه می کنیم				
محلول شماره ۳	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	

نرمال ۱۷-۴۳

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦۰ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی TOTAL PROTEIN در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

اندازه گیری غلظت پروتئین توتال تست مفیدی برای تشخیص بسیاری از نارسایی ها است. کاهش غلظت پروتئین توتال در اثر سنتز ناقص پروتئین در کبد، جذب ناقص روده ای، از دست دادن پروتئین در اثر عملکرد نادرست کلیه و سوء تغذیه ایجاد می گردد.

افزایش پروتئین توتال در ناهنجاری های بدخیم مزمن، سیروز کبدی و دهیدراتاسیون دیده می شود.

اساس آزمایش:

در این آزمایش پروتئین در محیط قلیایی با یون های مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی رنگ می دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار پروتئین در نمونه می باشد.

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	۲۰ λ	–	–
استاندارد	–	۲۰ λ	–
سرم	–	–	۲۰ λ
محلول مخلوط شده ۱ و۲	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$$\frac{ODT}{ODS} \times ٦ = mg/dl$$

نرمال ٦.٦–٨.٨

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦٠ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی PHOSPHORUS در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

فسفر در بدن تنها به شکل فسفات دیده می شود. بیشترین تجمع آن به اشکال غیر آلی در استخوان ها است و همچنین در سلول ها به صورت فسفولیپید، اسیدهای نوکلئیک و آدنوزین تری فسفات که عامل انتقال انرژی است نیز دیده می شود. فسفر در پلاسما به شکل فسفات کلسیم است و بنابراین سطح فسفر پلاسما شدیداً به میزان کلسیم موجود در پلاسما وابسته است.

کاربرد اندازه گیری فسفر در سرم و ادرار، در تشخیص اختلالت کلیوی، استخوانی و غدد پاراتیروئیدی است. افزایش مقادیر فسفر در آسیب های کلیوی، هیپو پاراتیروئیدیسم، هیپوپاراتیروئیدسیم کاذب و کمبود فسفات کلسیم در استخوان ها و سلول ها دیده می شود.

کاهش فسفر در سوء جذب، هاپیراپاراتیروئیدیسم و کمبود ویتامین D می شود.

برای تکمیل اطلاعات در اکثر بیماری های فوق اندازه گیری غلظت کلسیم در کنار فسفر ضروری است.

اساس آزمایش:

$$\rightarrow \text{Ammonium molybdate + Sulphuric acid + phosphate}$$

Inorg phosphorus molybdate complex

روش انجام کار:

	B	S	T
آب مقطر	۱۰ λ	–	–
استاندارد	–	۱۰ λ	–
سرم	–	–	۲۰ λ
محلول مخلوط شده ۱ و۲	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

طول مربع ۳٤۰ nm

$$\frac{ODT}{ODS} \times ۵ = mg/dl$$

نرمال ۳.۹ – ۷.۷

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦۰ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.

کیت تشخیص کمی HDL Precipitant در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

مقدمه:

کلسترول جذب شده از مواد غذایی یکی از اجزاء سازنده دیواره سلولی، پیش ساختی برای هورمون های استروئیدی و اسیدهای صفراوی ساخته شده در بدن است. کلسترول توسط لیپوپروتئین ها (ترکیبی از لیپید و آپولیپوپروتئین ها) در پلاسما حمل می شود.

لیپوپروتئین ها به چهار شکل LDL (لیپوپروتئین ها با چگالی پایین) که در انتقال کلسترول به سلول ها نقش دارد، HDL (لیپوپروتئین با چگالی بالا) که مسئول بازگرداندن کلسترول از سلول ها است، VLDL (لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین) و شیلومیکرونها دیده می شوند که غلظت آن ها الرتباط واضحی با گرفتگی رگهای کرونر قلبی دارد.

افزایش LDL – کلسترول باعث تشکیل پلاک در غشای داخلی شریان ها می شود و نهایتاً منجر ب گرفتگی رگهای کرونر قلبی می گردد. افزایش LDL – کلسترول حتی با وجود مقادیر نرمال کلسترول بیانگر وجود ریسک بالای گرفتگی رگها است، در حالیکه HDL – کلسترول اثر محافظت کننده در برابر تشکیل پلاک ها دارد و ارتباط معکوس با بروز گرفتگی در رگهای کرونر قلبی دارد. در نتیجه کاهش HDL– کلسترول یک ریسک فاکتور مستقل در گرفتگی رگهااست.

اندازه گیری کلسترول به تنهایی جهت شناسایی بیماران دارای ریسک گرفتگی رگهای قلبی کافی نیست و ارزیابی میزان LDL– کلسترول و HDL– کلسترول در کنار آن ضروری است.

تحقیقات سال های اخیر نشان داده است که استفاده از رژیم غذایی صحیح، تغییر روش زندگی و استفاده از داروهای مناسب، باعث کاهش کلسترول و LDL– کلسترول می شود و به طور موثری احتمال گرفتگی رگهای قلبی را کاهش می دهد.

اساس آزمایش:

شیلو میکرون ها، VLDL, LDL موجود در نمونه توسط اسید فسفوتنگستیک و یونهای منیزیم رسوب داده می شوند. پس از سانتریفیوژ محلول رویی تنها شامل HDL – کلسترول می باشد که با استفاده محلول کلسترول به صورت آنزیماتیک اندازه گیری می گردد.

روش انجام کار:

	B	T
محلول فوقانی	–	۱۰۰ λ
آب مقطر	۱۰۰ λ	–
معرف	۱۰۰۰ λ	۱۰۰۰ λ

طول مربع ٥٤٦ nm

$ODS \times ۳۲۰ = {}^{mg}/_{dl}$

نرمال ≥ ۳۵

مقدار λ ۲۰۰ نمونه بیمار را با λ ۵۰۰ محلول رسوب نموده به خوبی مخلوط نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد قرار دهید پس در g ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه و یا g ٤۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانترینوژ نمایید.

پس از مخلوط نمودن تا ۲۰ دقیقه در دمای محیط و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکربه نموده و حداکثر طی ٦۰ دقیقه جذب نوری نمونه و استاندارد را در برابر بلانک با فتومتر اندازه گیری نمایید.