

β-hCG ELISA KIT

کیت کمی اندازه گیری هورمون β -hCG در سرم یا پلاسما

REF 1024 96 چاهک

لطفاً قبل از انجام آزمایش، بروشور کیت به طور کامل و با دقت مطالعه شود. از دستورالعمل‌های انجام آزمایش کیت پیروی کنید و آنها را تغییر ندهید. فقط با مراعات کامل این دستورالعمل‌ها می‌توان از نتایج غلط اجتناب کرده و از کیت β -hCG Gold Medi Test Plus عملکرد مطلوب را بدست آورد.

هدف از استفاده:

کییت β -hCG Gold Medi Test Plus به روش الایزا جهت اندازه گیری کمی میزلا هورمون β -hCG در نمونه سرم/پلازما انسان کاربرد دارد.

این کییت فقط برای In Vitro Diagnostic (IVD) و جهت استفاده در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی کاربرد دارد.

خلاصه:

ساختار و نقش فیزیولوژیک: گنادوتروپین جفت انسان (Chorionic Human Gonadotropin) ، گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی 46 کیلو دالتون از دو زنجیره α و β تشکیل شده است که با پیوند‌های غیرکوالاسی با هم متصل هستند. زنجیره α با 89 اسیدآمینه از لحاظ ساختمان با هورمون های FSH, LH, TSH مشترک است. زنجیره β که مختص hCG بوده و مسئول خصوصیات بیولوژیکی و ایمونولوژیکی این هورمون می باشد، از 180 اسید آمینه تشکیل شده است که 150 اسید آمینه اول آن با LH به میزان 80% قرابت آنتی ژنی دارد. لذا مشخصه زنجیره β ترتیب 30 اسید آمینه قطعه انتهایی C-terminal می باشد که برای هر هورمون اختصاصی است. ترشح hCG توسط سلول های تروفوبلاستی پس از لقاح سلول تخم و تکثیر اولیه آن آغاز می گردد، hCG تولید شده بر جسم زرد اثر گذاشته و از تحلیل آن جلوگیری می کند. سپس پروژسترون و استروژن های تولید شده از جسم زرد با اثر گذاری بر روی سلول های دیواره رحم زمینه لانه گزینی و شروع حاملگی را آماده می کنند. پس از لانه گزینی و تشکیل جفت، تولید hCG توسط سلول های جفت ادامه پیدا می کند. بدین ترتیب مهم ترین وظیفه hCG نگهداری جسم زرد است که به نوبه خود تولید کننده استرادیول و پروژسترون لازم جهت تداوم بارداری و رشد جنین است. استفاده اصلی تعیین غلظت هورمون hCG، در تایید حاملگی می باشد. علاوه بر آن اندازه گیری این هورمون در تعیین تقریبی سن بارداری، بررسی احتمال وقوع سقط، تشخیص حاملگی خارج رحمی و مسمومیت حاملگی کاربرد دارد. بدین معنا که غلظت سرمی این هورمون در موارد فوق پایین تر از مقدار آن در بارداری های طبیعی داخل رحمی است. با توجه به افزایش میزان hCG در تومورهای تروفوبلاستیک و ژرمینال، تومورهای غیر تروفوبلاستیک Choriocarcinoma, Trophoblastic Embryonal, مولهای خمدان، پستان، بیضه، مثانه، پانکراس، ریه، کبد، دستگاه گوارش و مول هیداتیدیدی فرم Hydatidiform mole اندازه گیری این هورمون در تشخیص و پیگیری پاسخ به درمان موارد پاتولوژی فوق الذکر حائز اهمیت است.

اساس آزمائش:

1-سمپلرهای 50 و 100 میکرولیتری دقیق (درصورت امکان سمپلر 8 کاناله با قابلیت برداشت 50 تا 100 میکرولیتر و یا دیسپنسر اتوماتیک)
2-آب مقطر یا آب دیونیزه تازه (ترجیحا با هدایت الکتریکی مطلوب)
3-دستگاه خوانشگر پلیت دارای فیلتر 450 نانومتری و 630 نانومتری به عنوان فیلتر رفرانس
4-دستمال جاذب رطوبت یا پارچه تمیز
5-دستگاه و اشتر اتوماتیک یا هر تجهیز دیگر نظیر سمپلر 8 کاناله که قادر به ریختن 350 میکرولیتر محلول شستشو باشد. (سیستم آسپیراسیون / شستشوی چاهک)
6-دستکش یک بار مصرف
7-تایمر

محتویات کیت:

کیت حداکثر برای آزمایش 87 نمونه در یک سری

1. معرف های مربوط به شماره ساخت های مختلف را با پدیکتر استفاده نمایید همچنین از استفاده محلول های کیت تجاری دیگر پرهیز نمایید. محتویات این کیت دقیقاً برای اجرای آزمایش به نحوه مطلوب فقط برای همین کیت فراهم شده اند.

2. مطمئن شوید که تمام معرف ها براساس آنچه بروی کیت و برای یک شماره ساخت بیان شده معتبر باشد. هرگز از معرف ها بعد از تاریخ انقضایی که بروی برچسب یا جعبه بیان شده استفاده نکنید.

3. توجه- مرحله مهم: اجازه دهید معرف ها و نمونه ها قبل از استفاده به دمای اتاق (20-30 درجه سانتیگراد) برسند. معرف ها را قبل از استفاده به آرامی تکان دهید. پس از استفاده فوراً به 2-8 درجه سانتیگراد بازگردانید.

4. آنگونه که در مراحل روش آزمایش بیان شده است، فقط از حجم کافی نمونه استفاده کنید. زیرا در غیر این صورت از حساسیت آزمایش کاسته خواهد شد.

5. کف خارجی چاهک ها را با دست لمس نکنید، اثر انگشت یا خراش می تواند در خواندن نتایج اختلال ایجاد نماید. در هنگام خواندن نتایج آزمایش از خشک بودن کف پلیت و فقدان حباب های هوا در داخل چاهک ها اطمینان حاصل نمایید.

6. هرگز نگذاری چاهک ها بعد از مرحله شستشو خشک شوند. فوراً مرحله ی بعدی را آغاز کنید. موقع افزودن معرف ها از تشکیل حباب های هوا اجتناب کنید.

7. از وقفه های طولانی مدت در مراحل آزمایش اجتناب کنید. از یکسان بودن شرایط کاری برای همه چاهک ها اطمینان حاصل کنید.

8. سرمیله را در زمان مشخص کالیبر نمایید تا از درستی حجم نمونه ها/ معرف هایی که توزیع می کنید مطمئن شوید. از سرمیلهای جداگانه یک بار مصرف برای نمونه و معرف ها استفاده کنید تا از آلودگی های متقاطع جلوگیری شود.

9. هنگام افزودن نمونه ها، سرمیله را به دو چاهک تماس پیدا نند.

10. هنگام سنجش با خوانشگر پلیت، جذب را در طول موج 450 نانومتر یا در 450/630 نانومتر اندازه گیری نمایید.

11. فعالیت آنزیمی HRP-کوژنوگ ممکن است تحت تاثیر گرد و غبار و مواد شیمیایی فعال و موادی مثل هیوکلریت سدیم، اسیدها، قلیاها و غیره قرار گیرد. آزمایش را در حضور این مواد انجام ندهید.

12. اگر از دستگاه تمام اتوماتیک استفاده می کنید، طی آنکوباسیون پلیت ها را با برچسب مخصوص پلیت نپوشانید، همچنین می توان بعد از شستشو از خارج کردن ذرات باقیمانده داخل پلیت به وسیله ضربه آرام صرف نظر کرد.

13. فقط برای مصرف آزمایشگاهی (For In vitro diagnostic use) و توسط افراد حرفه ای صلاحیت دار می باشد.

14. یک پوشش داده شده با آنتی بادی ضد β -HCG در چاهک ها یا رطوبت گیر در کیسه پلاستیکی زیپ دار که برای است قرار دهید و در یخچال به دمای 2-8 درجه از باز شدن، به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه

15. هفت ویال استاندارد آماده مصرف حاوی آنالیت 0,10,50,100,250,500,1000 m در بافر حاوی استاندارد ها 1.5 ml می باشد.

16. کیت حاوی یک ویال سرم کنترل پایین (Low Control)؛ کیت بالا (High control) دارای مایعی زرد رنگ ص شده بر روی برچسب ویال می باشد. ویال های

17. در بافر پروتئینی به همراه نگهدارنده) : محلول آنزیم HRP ، با حجم 6 ml و آماده مصرف می به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار

18. مایعی بی رنگ با حجم 25 ml می باشد. قبل از یونیزه به نسبت 1 به 20 رقیق شود. پس از رقیق اتاق، یا به مدت 2 ماه در صورت نگهداری در دمای

19. محلول سوبستر-رنگزا حاوی تترا مینیل بنزین (TMB Substrate) بی رنگ در یک ویال قهوه ای با حجم 12 ml در یخچال به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه

20. مایعی بی رنگ (Stop Solution) : مایعی بی رنگ حاوی 0.5 مولار و آماده مصرف با حجم 12 ml می به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار

21. جهت نگهداری نوارهای استفاده نشده پلیت جهت پوشاندن چاهک ها در مدت آلودگی چاهک

مواد و وسایل لازم که در کیت موجود نمی باشند:

15. همه نمونه های با منشأ انسانی باید بالقوه عفونی در نظر گرفته شوند. پیروی دقیق از مقررات GLP می تواند موجب اطمینان از ایمنی فردی شود.

16. به هنگام انجام آزمایش و جابجایی محلول ها از رویوش آزمایشگاه ، دستکش و مایع بار مصرف و وسایل حفاظت فردی استفاده کنید.

17. تمام معرف ها و مواد باقیمانده را با رعایت اصول ایمنی و مقررات قابل اجرا مدیریت نموده و امحا نمایید.

هشدار: ممکن است در تهیه کنترل های کیت از موادی با منشأ انسانی استفاده شده باشد. این مواد با کیت های آزمایشگاهی دارای عملکرد قابل قبول آزمایش شده و نتیجه آزمایش برای وجود آنتی بادی های anti-HCV ، anti-HIV^{1/2} و HBS منفی بوده اند. اما هیچ روش آنالیتیکی وجود ندارد که بتواند از فقدان کامل عوامل عفونی در نمونه ها با معرف ها اطمینان دهد. لذا تاکید می گردد با معرف ها و نمونه ها همچون عوامل انتقال دهنده بیماری های عفونی و با احتیاط بسیار رفتار کنید. آلبومین سرم گاوی (BSA) و سرم های جنین گوساله (FCS) از حیواناتی از مناطق جغرافیایی BEST/TCS free گرفته شده اند.

18. با مواد شیمیایی و بیولوژیک باقیمانده مطابق با مقررات جاری GLP و مقررات محلی یا ملی رفتار نمایید.

19. قبل از دفع پسماند های الوده برای الودگی زدایی؛ سر سمپلرها، ویال ها، نوارها و ظروف نمونه را جمع آوری کرده و حداقل به مدت 2 ساعت در دمای 121 درجه سانتیگراد اتوکلاو نموده یا به مدت 30 دقیقه در هیپوکلیت سدیم 10٪ قرار دهید. محلول های حاوی هیپوکلیت سدیم هرگز نباید اتوکلاو شوند. در صورت درخواست به برگه اطلاعات ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود.

20. هرگز در آزمایشگاه چیزی نخورید، نباشامید، سیگار نکشید و لوازم آرایش به کار نبرید. هرگز محلول ها را با دهان پیپت نکنید.

21. برخی از معرف ها از جمله محلول متوقف کننده واکنش، محلول های رنگزا و بافر شستشو بصورت مواد خام ممکن است سمی، التهاب زا، سوزاننده و یا اثر سرطان زاایی داشته باشند. از تماس پوست یا مخاط با این معرف ها اجتناب شود.

22. محلول متوقف کننده واکنش، اسید سولفوریک (H_2SO_4) نیم مولار (0.5M) است. با احتیاط از آن استفاده کنید. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.

23. ProClin™300 (0.1%) که به عنوان نگهدارنده استفاده شده است، می تواند باعث حساسیت پوستی شود. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.

24. جهت کاهش پدیده تأخیری، با توجه به غلظت بالای محلول آنزیم کونژوگه شده باشد. آنتی بادی ضد β -hCG، ضرورت دارد تعداد نمونه ها در تست حداکثر 3 ردیف باشد.

جمع آوری، حمل و نقل و نگهداری نمونه:

• جمع آوری نمونہ:

1. نمونه را برپاساس روال عادی آزمایشگاه جمع آوری کنید. از نمونه های سرم یا پلاسما یازمی می توان برای آزمایش استفاده نمود. باید اجازه داد که خون گرفته شده از ورید بطور طبیعی و کامل لخته و سرم یا پلاسما جدا گردد. هرچه زودتر از لخته جدا شود تا از همولیز شدن گلبول قرمز اجتناب گردد. برای اطمینان از این که نمونه های سرم شفاف و بدون آلودگی میکروبی هستند باید توجه لازم را به کار برد. هرگونه ذرات قابل رویت در نمونه را باید با سانتریفوژ کردن در دور 3000 در دقیقه (RPM) به مدت 20 دقیقه دردمای اتاق یا با فیلتراسیون برطرف کرد.
2. از نمونه های جمع آوری شده از سرم و یا پلاسما ی حاوی ضد انعقاد هپارین و EDTA می توان استفاده کرد.
3. از نمونه های لیپمیک، کاتریتیک و همولیز نباید استفاده شود زیرا این نمونه ها می توانند موجب نتایج کاذب شوند. نمونه ها را توسط حرارت غیرفعال نکنید. این کار می تواند باعث افت آنتی ژن مورد نظر گردد. از نمونه های با آلودگی میکروبی قابل رویت هرگز نباید استفاده شود.

• حمل و نقل و نگهداری نمونه:

1. از ایجاد و دوپ کردن مدر نمونه ها بیس از 2 بار جلوگیری شود. نمونه های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی و به طور کامل مخلوط شده تا کاملاً یکنواخت و همگن گردند.

2. کیت β -hCG Gold Medi Test Plus فقط برای آزمایش کردن نمونه های سرم یا پلاسما در نظر گرفته شده است. از این کیت برای آزمایش کردن نمونه جسد، بزاق، ادرار، خون مخلوط شده و یا سایر مایعات بدن استفاده نکنید.

3. نمونه ها را در دمای 2-8 درجه سانتیگراد نگهداری کنید. اگر آزمایش نمونه ها در فاصله 24 ساعت پس از نمونه گیری انجام نمی شود؛ جهت جلوگیری از آلودگی باکتریایی، نمونه ها را در فریزر و در دمای 20- تا 80- درجه سانتیگراد نگهداری نمایید. جهت ارسال و انتقال نمونه باید مطابق با مقررات محلی و بین المللی موجود برای حمل و نقل نمونه های بالینی و عوامل بیولوژیک عمل نموده و بسته بندی و برچسب گذاری مناسب انجام شود.

نگهداری و پایداری:

نگهداری و پایداری:

1. در صورت نگهداری در دمای 2-8 درجه سانتیگراد محتویات کیت تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی برچسب و جعبه کیت پایدار خواهند بود. از انجماد کیت یا اجزاء کیت خودداری نمایید.
2. محلول شستشو بهتر است روزانه و تازه تهیه شود و در همان روز مصرف شود.
3. تغییر در خصوصیات فیزیکی معرف ها؛ نظیر وجود ذرات معلق در آنها اغلب حاکی از آلودگی و خرابی معرف ها می باشد.
4. محلول سوپستر-انگزا باید بی رنگ باشد. وجود رنگ آبی در این محلول نشان از خرابی و آلودگی آن دارد و قابل استفاده نمی باشد.
5. اجزاء کیت ها با سری ساخت متفاوت نباید با یکدیگر استفاده شوند و از جابه جایی درب معرف ها پرهیز شود.

خوانش نمایید. (توجه: مقدار جذب نوری را حداکثر تا 15 دقیقه پس از توقف واکنش اندازه گیری نمایید).

LOW کیت از محدوده ی ادعایی بیان شده، نشان دهنده احتمال افت معرف ها و

یا خطای اپراتور یا تجهیزات مورد استفاده است. در چنین مواردی باید نتایج را نامعتبر در نظر گرفت و نمونه ها را دوباره آزمایش نمود. در صورتی که همچنان

نتایج اشتباه بدست آید و علت آن افت یا ناپایداری معرف ها باشد، معرف ها را با معرف جدید فوراً جایگزین کنید یا برای دریافت راهنمایی بیشتر با پشتیبان فنی Gold Medi Test Plus تماس ، نگیرید.

آماده سازی معرف ها:
اجازه دهید کیت و معرف ها به دمای اتاق (30-18 درجه سانتیگراد) برسند.
تهیه محلول شنششو: برای تهیه محلول شنششو، یک حجم از بافر شنششو غلظت

• بعد از انکوباسیون، برای جلوگیری از آلودگی های متقاطع پلیت با نمونه ها یا کونزوگه - HRP، محتویات چاهک ها را دور نریزید بلکه اجازه دهید دستگاه شستشو 20X را با 19 حجم آب مقطر یا آب دیونیزه رقیق نمائید. محلول شستشو به مدت یک هفته در دمای اتاق پایدار است.

بافر شستشوی غلیظ را از نظر وجود کریستال نمک بررسی کنید. در صورت وجود کریستال با گرم کردن در 37 درجه سانتیگراد آنها را حل کنید. سایر معرف ها آماده مصرف هستند.

• بافر شستشوی غلیظ را قبل از استفاده باید به نسبت 1/20 رقیق کرد. اگر از همه جاهاک های یک بلیت استفاده نمی کنید، حجم متناسبی از محلول را تهیه نمایید.

مرحله 1- آماده سازی : دو چاهک برای کنترل بالا و پایین و هفت چاهک جهت استنادهای و به تعداد بیمار، چاهک در نظر بگیرد و مابقی چاهک ها را به همراه

رطوبت گیر درون کیسه مخصوص قرار داده و درب آن را ببندید. پیشنهاد می گردد استانداردها را به صورت دوتایی آزمایش کنید.

مرحله 2- افزودن نمونه: 100 میکرولیتر از نمونه ها، استانداردها و کنترل ها درون چاهک ها اضافه نمایید.

محاسبه نتایج :

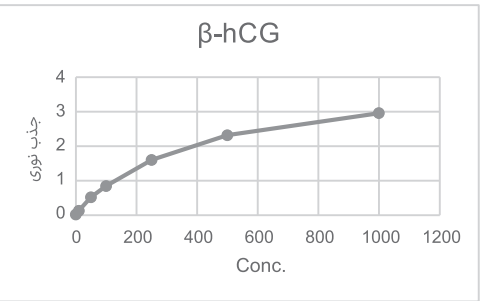
جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه خوانشگر الایزا در طول موج 450 و 630 نانومتر خوانش نمایید.

با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها وغلظت آن ها، نمودار نقطه- به- نقطه (Point-to-point) رسم کنید. به طوری که جذب نوری استاندارد روی محور عمودی Y و غلظت آن روی محور افقی X برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد به دست آورده و سپس به یکدیگر وصل نموده و منحنی استاندارد را از طریق ترسیم خطوطی که از نقاط تلاقی محورهای Y و X عبور کرده باشد، رسم کنید تا منحنی به دست آید.

•میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور Y جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل کنید. از نقطه به دست آمده خطی عمود بر محورافقی X وارد کنید تا نقطه تلاقی که نشان دهنده غلظت نمونه است، به دست آید.

•در صورتی که ازاسپکتروفتومتر مخصوص میکروپلیت استفاده می کنید جهت محاسبه نتایج و ترسیم منحنی کالیبراسیون به دستورالعمل دستگاه مراجعه نمایید.

غلظت (mIU/ml)	جذب نوری (OD)	نمونه
0	0.022	استاندارد A
10	0.129	استاندارد B
50	0.521	استاندارد C
100	0.847	استاندارد D
250	1.603	استاندارد E
500	2.318	استاندارد F
1000	2.957	استاندارد G
10.37	0.133	کنترل Low
261.49	1.631	کنترل High
200.18	1.394	سرم



۷

Gold medi[®] test plus

E I A D I A G N O S T I C K I T
THE EIA DIAGNOSTIC KIT FOR 96 TESTS

کنترل کیفی:

تست در صورتی تایید می گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از 0/09 باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از 1/4 باشد. همچنین خوانش کنترل های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد.
- خوانش کنترل‌های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد. توصیه می گردد جهت حصول اطمینان از نتایج کیت، علاوه بر کنترل‌های ارائه شده در کیت، به صورت دوره ای از کنترل‌های دقت و صحت تجاری نیز استفاده گردد. بدیهی است نتایج بدست آمده بایستی در محدوده مورد قبول قرائت گردد.

مقادیر طبیعی:

درافراد سالم غیر حامله، غلظت سرمی hCG معمولا کمتر از 5 mIU/ml است. در بارداری طبیعی داخل رحمی، 1-1/5 هفته بعد از لقاح، غلظت hCG قابل اندازه گیری و حدود 5 mIU/ml می باشد، غلظت این هورمون در طول 6 هفته اول حاملگی هر 3-1/5 روز دو برابر می شود. در اواخر سه ماهه اول حاملگی، غلظت hCG به بالاترین میزان خود حدود 100000 mIU/ml می رسد. سپس از اوایل سه ماهه دوم حاملگی میزان آن به آرامی کاهش می یابد. لازم به ذکر است که غلظت این هورمون درموارد حاملگی های دوقلو یا چند قلو تقریبا دو برابر می باشد. در حاملگی خارج رحمی غلظت این هورمون نسبت به حاملگی طبیعی داخل رحمی پایین تر می باشد. نمونه های با غلظت β-hCG در محدوده 5-10 mIU/ml مشکوک به حاملگی تلقی شده و تکرار تست بعد از 48 ساعت توصیه می گردد. نمونه هایی که غلظت hCG در آن ها بیش از 25 mIU/ml باشند، مثبت تلقی می شوند. در حاملگی های طبیعی داخل رحمی، میزان β-hCG گزارش شده در کتب مرجع به شرح ذیل است:

هفته بعد آخرین دوره قاعدگی (Last menstrual Period)	هفته بعد از باروری	محدوده غلظت mIU/ml
4	2	5-100
5	3	200-300
6	4	10000-80000
7-14	5-12	90000-500000
15-26	13-24	5000-80000
27-40	26-38	3000-15000

قابل ذکر است، جدول فوق یک راهنمای کلی است و توصیه می گردد هر آزمایشگاهی با اندازه گیری غلظت β-hCG افراد سالم و باردار، مقادیر طبیعی بازه مرجع خود را تعیین و از آن برای تفسیر نتایج استفاده نماید.

ویژگی های اختصاصی کیت:

اختصاصیت(Specificity):

جهت بررسی اختصاصیت آنتی بادی به کار رفته در این کیت، اثر تداخلی آنالیت های هورمونی TSH (تا 1000 mIU/ml)، LH (تا 200 mIU/ml) و FSH (تا 200 mIU/ml) بررسی گردید. نتایج به شرح زیر می باشد:

درصد تداخل	آنالیت افزوده شده
< 0.1	TSH
< 0.1	LH
< 0.1	FSH

مواد مداخله گر(Interfering Substances):

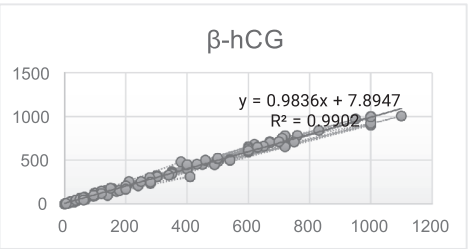
اثر تداخلی بیلی روبین تا 20 mg/dl، هموگلوبین تا 500 mg/dl، تری گلیسیرید تا 3000 mg/dl، و فاکتورهای روماتوئید تا 3400 IU/ml در سرم کمتر از 5% می باشد. نمونه سرم یا پلاسمای افرادی که سابقه درمان یا تشخیص بیماری با مواد حاوی آنتی بادی مونوکلونال موش داشته اند، می تواند حاوی آنتی بادی های انسانی ضد موش (HAMA) باشد. با توجه به غلظت آنتی بادی و مواد بازدارنده مورد استفاده در این کیت، واکنش های تداخلی غیر اختصاصی به حداقل رسیده و تاکنون واکنش مثبت کاذب مشاهده نشده است. در موارد نادری به دلیل پیدایش ایزوفرم های جدیدβ-hCG در سرم بیمار، غلظت بدست آمده از روش های مختلف لزوما بر هم منطبق نیستند، لذا ضروری است آزمایشگاه ضمن اعلام روش سنجش به کار رفته در تعیین غلظت β-hCG به پزشک، در صورت تغییر آن تطابق عددی دو روش را پیش از تغییر، برای بیماران تعیین نماید. محدوده قابل اندازه گیری غلظت β-hCG با این کیت 0.5-1000 mIU/ml مییابد.

حساسیت (Sensitivity):

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و دو برابر انحراف معیار(SD)، حداقل غلظت β-hCG قابل تشخیص در این کیت 0.5 mIU/ml می باشد.

صحت(Accuracy):

جهت بررسی صحت آزمایش، تست همبستگی بر اساس پروتکل CLSI (EP29-A) به طور همزمان بر روی 120 نمونه سرم در سطوح مختلف با روش مرجع (ECL) و کیت β-hCG Gold Medi Test Plus انجام گردید. نتایج این بررسی ها همبستگی حدود 99% را نشان می دهد.



۹

دقت (Precision):

شاخص دقت این کیت برمبنای استاندارد CLSI(EP5-A2) ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان , β-hCG 3 نمونه با غلظت های مختلف اندازه گیری و انحراف معیار و ضریب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

Within-run Precision	میانگین	تعداد	Batch	Panel Member
%CV	SD			
7.39	1.513	40	1	1
1.36	1.507	40	1	2
1.75	8.95	40	1	3

Between-run Precision	میانگین	تعداد	Batch	Panel Member
%CV	SD			
11.9	2.36	20	1	1
8.21	8.79	20	1	2
2.12	10.74	20	1	3

خطی بودن (Linearity):

برای این منظور از استاندارد 1000 mIU/ml توسط استاندارد 0، رقت های مختلف تهیه و هر نمونه سه مرتبه تکرار گردید. نتایج به شرح زیر می باشد:

Bias (%)	Recovery (%)	میانگین (mIU/ml)	مقدار به دست آمده (mIU/ml)			مقدار مورد انتظار (mIU/ml)	میزان رقت
NA	NA	0.03	0.05	0.008	0.02	0	0%
-7.7	92.33	9.23	9.1	9.5	9.1	10	1%
2.1	102.13	51.07	57.1	49.8	46.3	50	5%
1.2	101.27	101.27	100.4	101.4	102	100	10%
0.5	100.53	251.33	248	253	253	250	25%
0.2	100.27	501.33	501	501	502	500	50%
-0.1	99.90	999	998	1000	999	1000	100%

تست بازایی (Recovery Test):

تست بازایی یا Recovery روشی برای تشخیص خطاهای سیستماتیک مربوط به نمونه و همچنین بررسی پایداری نمونه پس از جمع آوری به کار می رود. یک نمونه عادی یک بار در شرایط اولیه خود و بار دیگر پس از اضافه نمودن غلظت مشخصی از یک آنالیت به نمونه، مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. اختلاف بین دو مقدار اضافه شده و اندازه‌گیری شده در محاسبه بازیافت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

برای این منظور از استاندارد 1000 mIU/ml به عنوان استاندارد پایه استفاده شد و چهار غلظت 10، 100، 500 و 1000 به استاندارد پایه اضافه شد.

مقدار افزوده شده (mIU/ml)	مقدار مورد انتظار (mIU/ml)	غلظت بازیافت شده (mIU/ml)	ریکاوری (%)
10	505	500	99
100	550	520	94.5
500	750	780	104
1000	1000	1005	100.5

اثر هوک (Hook effect):

در این کیت تا غلظت 500000 mIU/ml اثر هوک دیده نشد.

منابع و مراجع :

- Cole L.A. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. Reproductive Biology and Endocrinology. 2010 ,8
- Stenman U. Human chorionic gonadotropin in cancer. Clinical biochemistry. 2004 ,(7) 37
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of in Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition. NCCLS Document EP-25A. 2009.
- Guder WG, et al. List of Analytes; Pre analytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt, 1996 16.
- Burtis C.A, et al. Tietz fundamental of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7th edition, 2013.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP-5A2004 .2.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking – First Edition. EP2018 .34..

خلاصه محتویات اصلی کیت:

از این خلاصه فقط جهت اشاره ای به محتویات کیت استفاده کنید و هنگام انجام آزمایش همیشه از صفحه مبسوط روش پیروی نمایید.

پلیت	Microwell Plate	1 x 96 wells
کنترل ها	Control Vials	2 x 1.5 ml
استاندارد ها	Calibration Curve Standards	7 x 1.5 ml
کونژوگه-HRP	HRP-Conjugate	1 x 6 ml
بافر شستشو	Wash Buffer	1 x 25 ml
محلول سوبسترا-رنگزا	Chromogen Substrate	1 x 12 ml
محلول متوقف کننده واکنش	Stop Solution	1 x 12 ml

خلاصه مراحل انجام آزمایش

افزودن نمونه ها و کنترل ها و استاندارد ها
100 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق
شستشو
4 مرتبه
افزودن کونژوگه-HRP
50 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق
شستشو
4 مرتبه
افزودن سوبسترا-رنگزا(TMB)
100 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق و تاریکی
توقف واکنش
100 میکرولیتر
خوانش
630/450 نانومتر

نمادها :

	شرایط نگهداری 2-8 درجه سلسیوس	هشدار
	شماره ساخت	تاریخ انقضاء
	دستورالعمل استفاده	تاریخ تولید
	تولیدکننده	محتویات کیت (تعداد) آزمایش
	خطر زیستی	از خوردن و آشامیدن خودداری شود
	شماره کاتالوگ	لباس محافظت کننده و محافظ چشم بپوشید
	ProClin™ 300 8 phrases: 526-26-36/3736-45- 60-61 R phrases: 43	برای استفاده خارج از بدن

شماره بازبینی : 01 - 1402

تاریخ انتشار : اردیبهشت ماه 1402

تهران، جاده قدیم کرج، جاده شهریار، بعد از شهرک سعید آباد، حسن آباد خالصه، مجتمع علمی صنعتی عصر انقلاب ، خیابان دانش، خیابان فناوران، نیش خیابان نانوفناوری، شرکت آریا مبنا تشخیص

کدپستی: 3313193685

تلفن: 66512800(10 خط)

۱۲

۱۱

۱۰

۹

۸