

کیت کمی اندازه گیری هورمون β-hCG در سرم یا پلاسما
<div> <div><span><span></span></span></div> <div><span>IVD</span></div> </div>
<div> <div><span><span></span></span></div> <div><span>چاهک ۹6%</span></div> </div>
<div> <div><span><span></span></span></div> <div><span>1024 REF</span></div> </div>

لطفا قبل از انجام آزمایش، بروشور کیت به طور کامل و با دقت مطالعه شود.
از دستوراتعمل های انجام آزمایش کیت پیروی کنید و آنها را تغییر ندهید. فقط با مراعات کامل این دستورالعمل ها می توان از نتایج غلط اجتناب کرده و از کیت β-hCG Gold Medi Test Plus عملکرد مطلوب را بدست آورد.

**هدف از استفاده:**

کیت β-hCG Gold Medi Test Plus به روش الایزا جهت اندازه گیری کمی میزان هورمون‌گنادوتروپین جفتی انسان در نمونه *سرم/پلاسما* کاربرد دارد.

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

**خلاصه:**

ساختار و نقش فیزیولوژیک:

گنادوتروپین جفتی انسان (Chorionic Human Gonadotropin) ، گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی 46 کیلو دالتون از دو زنجیره α و β تشکیل شده است که با پیوندهای غیرکوالانسی به 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. تشریح 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, Carcinoma Embryonal ، تومورهای تخمدان، پستان، بیضه، مثانه، پانکراس، ریه، کبد، دستگاه گوارش و مول هیدانتیدی فورم Hydatidiform moleاندازه گیری این هورمون در تشخیص و پیگیری پاسخ به درمان موارد پاتولوژی فوق الذکر حائز اهمیت است.

**1**

**Gold medi<sup>l</sup> 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

**اساس آزمایش:**

طراحی کیت β-hCG Rapid بر اساس روش ایمنوآنزیماتیک ساندویچی با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال می باشد. در این روش نمونه بیمار همزمان با بافر سنجش که حاوی آنتی بادی بیوتینیله علیه مولکول کامل hCG می‌باشد به چاهک اضافه می شود. آنتی بادی همزمان به hCG و از ناحیه بیوتین به استرپتواویدین کف چاهک متصل می شود. کونژوگه متصل به آنزیم پراکسیداز (HRP) که نسبت به آنتی بادی بیوتینله، hCG را از ناحیه متفاوتی شناسایی می کند افزوده شده و در نهایت hCG نمونه بیمار بین دو آنتی بادی به حالت ساندویچ درآمده و مجموعه از طریق بیوتین به استرپتواویدین فازجامد متصل می‌شود.پس از شستشو و خارج کردن آنالیت های غیر متصل با افزودن سوپسترا - رنگزا (TMB) ، رنگ آبی ایجاد می شود. با اضافه نمودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می شود. شدت رنگ ایجاد شده با غلظت β-hCG ارتباط مستقیم دارد.

قرائت نتایج با استفاده از دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 نانومتر (با رفرانس 630 نانومتر) انجام می گیرد.

**محتویات کیت:**

1.پلیت: یک پلیت، دارای 96 چاهک پوشش داده شده با استرپتواویدین در پوشش آلومینیومی همراه با رطوبت گیر بسته بندی شده است. چاهک ها یا نوارهای استفاده نشده را همراه با رطوبت گیر در کیسه پلاستیکی زیپ دار که برای نگهداری آن ها تدارک دیده شده است قرار دهید و در یخچال به دمای 2-8 درجه سانتیگراد برگردانید. پلیت پس از باز شدن، به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.
2.سری استاندارد ها: کیت شامل شش ویال استاندارد آماده مصرف حاوی آنالیت β-hCG با غلظت های مشخص شده بر روی برچسب ویال در بافر حاوی پروتئین می‌باشد. حجم تمامی استانداردها به جز استاندارد صفر 1ml می باشد. حجم استاندارد صفر 5 ml می باشد.
3.سرم کنترل (Control Serum): کیت حاوی یک ویال سرم کنترل با غلظت مشخص شده بر روی برچسب ویال می باشد. حجم سرم کنترل 1ml می باشد.
4.بافر سنجش(Assay Buffer ) با حجم 6 ml که آماده مصرف می باشد.
5.کونژوگه -HRP (کونژوگه با HRP در بافر پروتئینی به همراه نگهدارنده) : محلول قرمز رنگ کونژوگه نشاندار شده با آنزیم HRP ، با حجم 12 ml و آماده مصرف می باشد. پس از باز شدن درب ویال به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار می باشد.

6.بافر شستشو (Wash Buffer) : مایعی بی رنگ با حجم 30ml می باشد. قبل از استفاده باید با آب مقطر یا آب دیونیزه به نسبت 1 به 20 رقیق شود. پس از رقیق سازی به مدت یک هفته در دمای اتاق، یا به مدت 2 ماه در صورت نگهداری در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.

7.محلول سوپسترا- رنگزا (TMB Substrate) : محلول سوپسترا-رنگزا حاوی تترا متیل بن—زدین و آب اکسیژنه، مایعی بی رنگ با حجم 12 ml آماده مصرف بوده و پس از باز شدن درب ویال به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.

8.محلول متوقف کننده واکنش (Stop Solution ) : مایعی بی رنگ که حاوی محلول اسیدکلریدریک رقیق شده 1مولار و آماده مصرف با حجم 12ml می‌باشد. پس از باز شدن درب ویال، به مدت  ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.
9. یک برگ برچسب : مخصوص پلیت جهت پوشاندن چاهک ها در مدت انکوباسیون و جلوگیری از تبخیر یا آلودگی چاهک
10. بروشور کیت

**مواد و وسایل لازم که در کیت موجود نمی باشد:**

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 واشر 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
8-ظروف زباله مناسب برای مواد بالقوه آلوده شده
9-سر سمپلر یک بار مصرف

**احتیاط و ایمنی:**

1.آزمایش های الایزا به زمان و دما حساس هستند. برای پرهیز از ایجاد نتایج اشتباه ، دقیقا از مراحل روش آزمایش بدون اعمال تغییر پیروی کنید.
2.معرف های مربوط به شماره ساخت های مختلف را با یکدیگر استفاده ننمایید و همچنین از استفاده محلول های کیت تجاری دیگر پرهیز نمایید.محتویات این کیت دقیقا برای اجرای آزمایش به نحوه مطلوب فقط برای همین کیت فراهم شده اند.
3.مطمئن شوید که تمام معرف ها براساس آنچه برروی کیت و برای یک شماره ساخت بیان شده معتبر باشد. هرگز از معرف ها بعد از تاریخ انقضایی که برروی برچسب یا جعبه بیان شده استفاده نکنید.
4.توجه-مرحله مهم: اجازه دهید معرف ها و نمونه ها قبل از استفاده به دمای اتاق (25-20 درجه سانتیگراد) برسند. معرف ها را قبل از استفاده به آرامی تکان دهید. پس از استفاده فوراً به 2-8 درجه سانتیگراد بازگردانید.
5.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.
6.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.
7.هرگز نگذارید 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.
8.از وقفه های طولانی مدت در مراحل آزمایش اجتناب کنید. از یکسان بودن شرایط کاری برای همه چاهک ها اطمینان حاصل کنید.
9.سمپلرها را در زمان مشخص کالیبر نمایید تا از درستی حجم نمونه ها/ معرف هایی که توزیع می کنید مطمئن شوید. از سرسمپلرهای جداگانه یک بار مصرف برای نمونه و معرف ها استفاده کنید تا از آلودگی های متقاطع جلوگیری شود.
10.هنگام افزودن نمونه ها، سرسمپلر با ته چاهک تماس پیدا نکند.
11.هنگام سنجش با خوانشگر پلیت ،جذب را در طول موج 450 نانومتر یا در 450/630 نانومتر اندازه گیری نمایید.
12.فعالیت آنزیمی HRP-کونژوگه ممکن است تحت تاثیر گرد و غبار و مواد شیمیایی فعال و موادی مثل هیپوکلریت سدیم، اسیدها، قلیاها و غیره قرار گیرد.
آزمایش را در حضور این مواد انجام ندهید.
13.اگر از دستگاه تمام اتوماتیک استفاده می کنید، طی انکوباسیون 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.
14.فقط برای مصرف آزمایشگاهی (For In vitro diagnostic use) و توسط افراد حرفه ای صلاحیت دار می باشد.

15.همه نمونه های با منشاء 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 روپوش آزمایشگاه ، دستکش یک 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 منشاء 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 ½ و HBs Ag منفی بوده اند. اما هیچ روش آنالیتیکی وجود ندارد که بتواند از فقدان کامل عوامل عفونی در نمونه ها یا 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 پسماندهای آلوده برای آلودگی 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 هیپوکلریت سدیم 10% قرار دهید. محلول های حاوی هیپوکلریت سدیم هرگز نباید اتوکلاو شوند. در صورت درخواست به برگه اطلاعات ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود.

20.هرگز در آزمایشگاه چیزی نخورید، نیاشامید، سیگار نکشید و لوازم آرایش به کار نبرید. هرگز محلول ها را با دهان پیت 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 زایی داشته باشند. از تماس پوست یا مخاط با این معرف ها اجتناب شود.
22.محلول متوقف کننده واکنش، اسید کلریدریک (HCl) یک مولار ( 1M ) است. با احتیاط از آن استفاده کنید. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.
23.(0.1% ProClin <sup>TM</sup>300) 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 به 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 نمونه:**

1.از نمونه های جمع آوری شده از سرم و یا پلاسمای حاوی EDTA می بایست استفاده کرد.
2.از نمونه های لیپمیک، ایکتریک 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 انجماد و ذوب کردن مکرر نمونه ها بیش 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 یک بار مصرف و وسایل حفاظت فردی استفاده کنید.
4.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 منشاء 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 ½ و HBs Ag منفی بوده اند. اما هیچ روش آنالیتیکی وجود ندارد که بتواند از فقدان کامل عوامل عفونی در نمونه ها یا 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 پسماندهای آلوده برای آلودگی 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 هیپوکلریت سدیم 10% قرار دهید.

20.محلول های حاوی هیپوکلریت سدیم هرگز نباید اتوکلاو شوند. در صورت درخواست به برگه اطلاعات ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود.

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 زایی داشته باشند. از تماس پوست یا مخاط با این معرف ها اجتناب شود.

22.محلول متوقف کننده واکنش، اسید کلریدریک (HCl) یک مولار ( 1M ) است. با احتیاط از آن استفاده کنید. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.
23.(0.1% ProClin <sup>TM</sup>300) 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 به آنتی بادی ضد β-hCG ، ضرورت دارد تعداد نمونه ها در تست حداکثر 3 ردیف باشد.
**•جمع آوری نمونه:**
1.از نمونه های جمع آوری شده از سرم و یا پلاسمای حاوی EDTA می بایست استفاده کرد.
2.از نمونه های لیپمیک، ایکتریک 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.

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

25.همه نمونه های با منشاء انسانی باید بالقوه عفونی در نظر گرفته شوند. پیروی دقیق از مقررات GLP می تواند موجب اطمینان از ایمنی فردی شود.
26.به هنگام انجام آزمایش و جابجایی محلول ها از روپوش آزمایشگاه ، دستکش یک بار مصرف و وسایل حفاظت فردی استفاده کنید.
27.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 منشاء 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 ½ و HBs Ag منفی بوده اند. اما هیچ روش آنالیتیکی وجود ندارد که بتواند از فقدان کامل عوامل عفونی در نمونه ها یا 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.

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

19.قبل از دفع پسماندهای آلوده برای آلودگی 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 هیپوکلریت سدیم 10% قرار دهید.

20.محلول های حاوی هیپوکلریت سدیم هرگز نباید اتوکلاو شوند. در صورت درخواست به برگه اطلاعات ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود.

مرحله 4- انکوبه کردن: پلیت را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق (25-20درجه سانتیگراد) انکوبه نمایید.

مرحله 5- شستشو: پلیت را 5 مرتبه و با حجم 300-350 میکرولیتر شستشو دهید. در هر مرحله اجازه دهید محلول شستشو به مدت 20-40 ثانیه درون چاهک ها باقی بماند. در انتهای شستشو با ضربه زدن آرام پلیت بر روی دستمال نمگیر یا کاغذ جاذب ، رطوبت باقی مانده را خارج نمایید.

مرحله 6-افزودن کونژوگه - HRP :100میکرولیتر از کونژوگه - HRP را به تمامی چاهک ها اضافه نموده و پلیت را به مدت 30 ثانیه به آرامی و به صورت ضربه ای شیک نمایید.

مرحله 7-انکوباسیون: پلیت را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق (25-20درجه سانتیگراد) قرار دهید.

مرحله 8- شستشو: مطابق با روش مرحله 5، محتویات چاهک ها را خالی نمایید و عمل شستشو را انجام دهید.

مرحله 9 -ایجاد رنگ : 100 میکرولیتر از محلول سوپسترا-رنگزا (TMB) به کلیه چاهک ها اضافه نمایید.

مرحله 10-انکوباسیون: پلیت را به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق و به دور از نور انکوبه نمایید. واکنش آنزیماتیک بین رنگزا و HRP باعث ایجاد رنگ آبی در چاهک های استاندارد (به جز استاندارد صفر) و نمونه های حاوی β-hCG می شود.

مرحله 11-اضافه کردن محلول متوقف کننده واکنش : 100میکرولیتر از محلول متوقف کننده واکنش را با استفاده از سمپلر چند کاناله یا به روش دستی به همه چاهک ها اضافه نمایید و به آرامی مخلوط کنید. رنگ آبی بعد از افزودن محلول متوقف کننده به رنگ زرد تغییر خواهد کرد.

مرحله 12- خوانش: پلیت را با فیلتر 450 نانومتر و فیلتر رفرانس 630 نانومتر خوانش نمایید. (توجه: مقدار جذب نوری را حداکثر تا 10 دقیقه پس از توقف واکنش اندازه گیری نمایید.)

### روش شستشو:

•برای دستیابی به نتایج درست و دقیق، روش شستشوی مناسب ضروری است. بنابراین توصیه می شود از یک دستگاه شستشو کننده پلیت الایزا با کیفیت خوب استفاده کنید. برای پیشگیری از ایجاد واکنش های مثبت کاذب و رنگ زیاد زمینه، توصیه می شود شستشو در هر مرحله از روند آزمایش ، به تعداد 5 مرتبه با حجم 300 تا 350 میکرولیتر محلول شستشو ترجیحا توسط سیستم اتوماتیک در هر چاهک انجام شود.

•بعد از انکوباسیون، برای جلوگیری از آلودگی های متقاطع پلیت با نمونه ها یا کونژوگه - HRP، محتویات چاهک ها را دور نریزید بلکه اجازه دهید دستگاه شستشو کننده پلیت (ELISA Washer) ، به طور اتوماتیک آنها را آسپیره کند.

•مطمئن شوید که کانال های توزیع کننده مایع در شستشو کننده پلیت، گرفتگی یا آلودگی نداشته باشند و حجم کافی از بافر شستشو هر بار در چاهک ها ریخته شود.

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

**۶**

**۵**

**۴**

**۳**

**۲**

**محاسبه نتایج :**

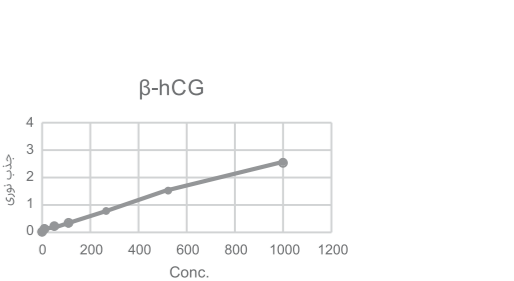
جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه خوانشگر الایزا در طول موج 450 و 630 نانومتر خوانش نمایiid.

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 ( IU / l )	جذب نوری (OD)	نمونه
0	0.025	استاندارد A
20	0.110	استاندارد B
100	0.380	استاندارد C
250	0.800	استاندارد D
500	1.450	استاندارد E
1000	2.600	استاندارد F



**کنترل کیفی:**

تست در صورتی تایید می گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از 0/10 باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از 1/28 باشد.همچنین خوانش کنترل های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد.

3.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 10mIU/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 محدوده10-25mIU/mlمشکوک 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 از باروری	محدوده غلظت mIU/ml
1	5 - 50
2	35-100
3	100-1000
4	1000-10000
5-12	30000-100000
13-24	10000-30000
25-36	5000-15000

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:

**دقت (Precision):**

شاخص دقت این کیت برمنبای 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
5.39	79.4	40	1	1
2.36	354.4	40	1	2
4.75	850.9	40	1	3

Between-run Precision	میانگین	تعداد	Batch	Panel Member
7.39	79.4	20	1	1
6.81	354.4	20	1	2
5.12	850.9	20	1	3

Between-run Precision	میانگین	تعداد	Batch	Panel Member
7.39	79.4	20	1	1
6.81	354.4	20	1	2
5.12	850.9	20	1	3

**خطی بودن (Linearity):**

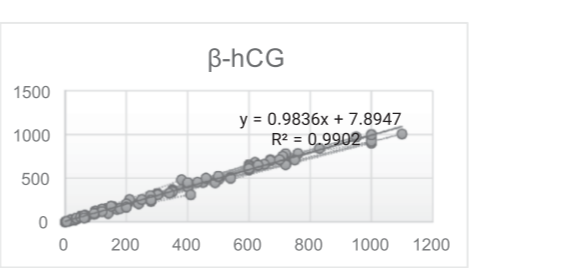
برای این منظور از استاندارد 1000 mIU/ml توسط استاندارد 0، رقت های مختلف تهیه و هر نمونه سه مرتبه تکرار گردید. نتایج به شرح زیر می باشد:

**حساسیت (Sensitivity):**

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و دو برابر انحراف معیار(SD)، حداقل غلظت β-hCG قابل تشخیص در این کیت 1 IU/L 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.



**تست بازیابی (Recovery Test):**

تست بازیابی 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 0 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 1000000 IU/L 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	Control Vial	1 x 1 ml
استاندارد ها	Calibration Curve Standards	5 x 1 ml
استاندارد 0	Calibration Curve Standard	1 x 5 ml
بافر سنجش	Assay Buffer	1 x 6 ml
کونژوگه-HRP	HRP-Conjugate	1 x 12 ml
بافر شستشو	Wash Buffer	1 x 30 ml
محلول سوپستر-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
50 میکرولیتر
افزودن بافر سنجش
50 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق
شستشو
5 مرتبه
افزودن کونژوگه-HRP
100 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق
شستشو
5 مرتبه
افزودن سوپستر-رنگزا(TMB)
100 میکرولیتر
انکوبه کردن
5 دقیقه،دمای اتاق و تاریکی
توقف واکنش
100 میکرولیتر
خوانش
630/450 نانومتر

**نمادها :**

	شرایط نگهداری 2-8درجه سلسیوس	هشدار
	شماره ساخت	تاریخ انقضاء
	دستورالعمل استفاده	تاریخ تولید
	تولیدکننده	محتویات کیت(تعداد)آزمایش
	خطررستی	از خوردن و آشامیدن خودداری شود
	شماره کاتالوگ	لباس محافظت کننده ومحافظ چشم بپوشید
	ProClin™ 300	برای استفاده خارج از بدن
	8 phrases: 526-26-363709-45- 60-61 R phrases: 43	

شماره بازیابی : 02 - 1403
تاریخ انتشار : اردیبهشت ماه 1404
تهران، جاده قدیم کرج، جاده شهریار، بعد از شهرک سعید آباد، حسن آباد خالصه، مجتمع علمی صنعتی عصر انقلاب ، خیابان دانش، خیابان فناوران، نبش خیابان نانوفناوری، شرکت آریا مینا تشخیص
کدپستی: 3313193685
وب سایت: www.aryamabna.com
ایمیل: info@aryamabna.com
تلفن: 66512800(10 خط)

۱۲

۱۱

۱۰

۹

۸

۷

Gold medi<sup>®</sup> 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