

شماره سند فرم: DI-LA-۰۹		❖ عنوان سند : نحوه انجام آزمایش هایی که در آزمایشگاه سروایمنولوژی و هورمون انجام می شود ❖ نوع سند: دستورالعمل		
دامنه کاربرد:		تعداد صفحات	تاریخ ابلاغ :	تاریخ بازنگری:
پرسنل واحد آزمایشگاه		۳۶	مهر ۱۴۰۳	_____
هدف : یکپارچه سازی روند انجام آزمایشات بخش سروایمنولوژی و هورمون				
تعاریف: ویال کالیبراتور : ویال موجود در کیت جهت به دست آوردن نمودار خوانش تست ها.				

بسمه تعالی

دستورالعمل:

سروایمنولوژی

- ۱- تحویل گروهی نمونه ها همراه با لیست مربوط به بخش و چک کردن وجود یا عدم وجود هر یک از نمونه ها و مطابقت دادن با لیست و در صورت عدم وجود نمونه مورد حتماً پی گیری و به سوپر وایزر اطلاع داده شود و در فرم مربوطه (نامناسب، اصلاحی و پیشگیرانه) ثبت شود.
- ۲- خارج کردن محلول ها نیم ساعت قبل از شروع انجام کار از یخچال تا به دمای محیط برسد.
- ۳- کنترل تاریخ انقضای تمام محلول های مورد استفاده
- ۴- در صورت باز کردن کیت جدید، نام کیت باید در لیست مربوطه قید شود و تمام اصول مربوط به باز کردن که به شرح زیر است رعایت گردد:
- الف) وارد کردن نام و شرکت سازنده کیت
- ب) وارد کردن شماره سری ساخت و تاریخ انقضای کیت
- ج) (چک خود محلول که یک دست باشد و هیچ آگلوتینه ای نداشته باشد.
- د) (چک کردن محلول به وسیله کنترل مثبت و منفی خود کیت
- و) (چک کردن محلول های کیت جدید به وسیله ی سرم های مثبت و منفی نگهداری شده در فریزر به عنوان کنترل سرم مثبت و منفی
- ی) وارد کردن تاریخ باز کردن کیت در دفتر و ثبت تاریخ بر روی خود محلول
- ۵) چیدن و مرتب کردن آن ها از روی شماره و سپس گرفتن لیست و شماره زدن و مطابقت دادن آن با لیست
- ۶- چک کردن تمام سرم ها از نظر کیفیت (همولیز، لیپمیک و فیبرین) و کمیت و در صورت عدم تأیید باید در فرم مربوطه (نامناسب، اصلاحی و پیشگیرانه) ثبت و مورد به سوپر وایزر اطلاع داده شود تا هماهنگی های لازم انجام شود.

CRP (انیسون)

جمع آوری نمونه:

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۱

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در 8°C -۲ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در 20°C - نگهداشته شود.
- از پلاسما استفاده نشود.
- از مصرف سرم‌های همولیز خودداری گردد

مواد موجود در کیت:

۱- سوسپانسیون لاتکس CRP

۲- کنترل مثبت

۳- کنترل منفی

لوازم مورد نیاز :

۱- اسلاید

۲- سمپلر

۳- شیکر

۴- چراغ مطالعه

- روش انجام آزمایش (کیفی):

- ۱- قبل از انجام آزمایش، نمونه‌ها و مواد موجود در کیت را به حرارت اتاق رسانده و سوسپانسیون را به خوبی تکان دهید.
- ۲- در سطح هر یک از خانه‌های اسلاید یک قطره کنترل مثبت، یک قطره کنترل منفی و ۵۰ لانداسرم بریزید
- ۳- یک قطره سوسپانسیون لاتکس (معادل ۵۰ لاند) را در مجاورت قطرات فوق قراردادده سپس آنها را با هم مخلوط کرده و در سطح اسلاید پخش نمایید.
- ۴- اسلاید را به کمک دست یا روتاتور به مدت ۲ دقیقه با سرعت $60-80\text{rpm}$ حرکت دهید.

نحوه گزارش جواب:

نتایج را با توجه به آگلوتیناسیون یا عدم آگلوتیناسیون به صورت زیر گزارش نمایید :

- ذرات آگلوتینه درشت با پس زمینه شفاف $3+$

- ذرات آگلوتینه متوسط با پس زمینه نیمه کدر $2+$

- ذرات آگلوتینه کوچک با پس زمینه کدر $1+$

- سوسپانسیون یکنواخت و عدم وجود آگلوتیناسیون منفی

***احتمال مشاهده پدیده پروزون در تیرهای بسیار بالا وجود دارد ***

- روش انجام آزمایش (نیمه کمی) :

نمونه‌ها را با نرمال سالین به صورت سریال به نسبت ۱/۲ بر روی اسلاید رقیق نمایید (.... ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶) بعد از آن مراحل انجام تست را مانند روش کیفی ادامه دهید. تیترا تقریبی مربوط است به بالاترین رقت سرم که آگلوتیناسیون

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲

واضح در آن قابل مشاهده است سپس برای محاسبه مقدار CRP فاکتور رقت (۲,۴,۸,۱۶,....) را در عدد ۶ ضرب کنید تا غلظت CRP سرم بر حسب mg/L به دست آید.

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از کنترل های مثبت و منفی استفاده نمائید.

مقادیر قابل انتظار :

CRP - یکی از اجزاء طبیعی سرم بوده و به غلظت های ۰/۵-۰/۲ میلی گرم در لیتر در سرم کودکان و بالغین سالم مشاهده شده است.

- ارتباط مستقیم ضعیفی بین غلظت CRP و سن دیده شده است.

- تفاوت واضحی در غلظت CRP بین آقایان و خانم های حامله وجود ندارد.

- غلظت متوسط CRP در بالغین ۰/۴۷ میلی گرم است.

نکته : در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

RF (انیسان)

جمع آوری نمونه:

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.

- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در ۸-۲°C قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در ۲۰°C- نگهداشته شود.

- از پلاسما استفاده نشود

- از مصرف سرم های همولیز خودداری گردد.

مواد موجود در کیت:

۱- سوسپانسیون لاتکس RF

۲- کنترل مثبت

۳- کنترل منفی

لوازم مورد نیاز:

۱- اسلاید

۲- سمپلر

۳- شیکر

۴- چراغ مطالعه

- روش انجام آزمایش (کیفی):

۱- قبل از انجام آزمایش، نمونه ها و مواد موجود در کیت را به حرارت اتاق رسانده و سوسپانسیون را به خوبی تکان دهید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۳

- ۲- در سطح هر یک از خانه‌های اسلاید یک قطره کنترل مثبت، یک قطره کنترل منفی و ۵۰ لانداسرم بریزید.
- ۳- یک قطره سوسپانسیون لاتکس (معادل ۵۰ لاند) را در مجاورت قطرات فوق قرار داده سپس آنها را با هم مخلوط کرده و در سطح اسلاید پخش نمایید.
- ۴- اسلاید را به کمک دست یا روتاتور به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۸۰-۶۰ rpm حرکت دهید.

نحوه کنترل کیفی:

در هر سری کاری از کنترل‌های مثبت و منفی استفاده نمایید.

نحوه گزارش جواب:

نتایج را با توجه به آگلوتیناسیون یا عدم آگلوتیناسیون به صورت زیر گزارش نمایید :

- ذرات آگلوتینه درشت با پس زمینه شفاف ۳+
- ذرات آگلوتینه متوسط با پس زمینه نیمه کدر ۲+
- ذرات آگلوتینه کوچک با پس زمینه کدر ۱+
- سوسپانسیون یکنواخت و عدم وجود آگلوتیناسیون منفی
- * احتمال مشاهده پدیده پروزون در تیتراهای بسیار بالا وجود دارد.

- روش انجام آزمایش (نیمه کمی):

نمونه‌ها را با نرمال سالین به صورت سریال به نسبت ۱/۲ بر روی اسلاید رقیق نمایید (.... ۱/۱۶, ۱/۸, ۱/۴, ۱/۲) بعد از آن مراحل انجام تست را مانند روش کیفی ادامه دهید. تیتتر تقریبی مربوط است به بالاترین رقت سرم که آگلوتیناسیون واضح در آن قابل مشاهده است سپس برای محاسبه مقدار RF فاکتور رقت (...., ۱۶, ۸, ۴, ۲) را در عدد ۱۰ ضرب کنید تا غلظت RF سرم بر حسب lu/ml به دست آید.

نکته : در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

VDRL (RPR) ENISON

جمع‌آوری نمونه:

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی‌گیرد تا ۴۸ ساعت در ۸-۲°C قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در ۲۰°C- نگهداشته شود.
- از پلاسما استفاده نشود.
- از مصرف سرم‌های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف‌های مورد نیاز:

کیت حاوی آنتی‌ژن، کنترل مثبت و کنترل منفی

لوازم مورد نیاز:

۱- اسلاید

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد؛

۲- سمپلر

۳- شیکر

۴- چراغ مطالعه

روش انجام آزمایش:

۵۰ لاندا سرم، کنترل مثبت و کنترل منفی روی اسلاید سفیدرنگ می ریزیم و توسط اپلیکاتور آنها را پخش می نمائیم پس از اینکه آنها را خوب روی سطح پخش کردیم یک قطره آنتی ژن به آنها اضافه می کنیم ولی هم نمی زنیم و به مدت ۸ دقیقه روی شیکر می گذاریم پس از ۸ دقیقه در زیر نور از نظر وجود آگلوتیناسیون بررسی می کنیم اگر آگلوتینه داشت مثبت است در غیر این صورت منفی می باشد.

نحوه کنترل کیفی:

در هر سری کاری از کنترل های مثبت و منفی استفاده نمائید.
نکته ۱: در صورت غیرنرمال بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.
نکته ۲: در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

ASO (ENISON)

جمع آوری نمونه:

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در 8°C -۲ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در 20°C - نگهداشته شود.
- از پلاسما استفاده نشود.
- از مصرف سرم های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف های مورد نیاز:

کیت حاوی آنتی ژن، کنترل مثبت و منفی

لوازم مورد نیاز:

۱- اسلاید

۲- سمپلر

۳- شیکر

۴- چراغ مطالعه

روش انجام آزمایش:

۵۰ لاندا سرم بیمار، کنترل مثبت و کنترل منفی را روی اسلاید ریخته و یک قطره آنتی ژن به آن اضافه می کنیم و خوب هم می زنیم سپس به مدت ۲ دقیقه روی شیکر می گذاریم پس از ۲ دقیقه در زیر نور بررسی می کنیم اگر آگلوتینه

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد

داشته باشد یعنی مثبت است و باید آن را تیترنمائییم برای تیتتر کردن به این ترتیب که یک اسلاید ۶ خانه برداشته در خانه های دوم به بعد ۵۰ لاندا سرم فیزیولوژی می ریزیم سپس به خانه های اول و دوم ۵۰ لاندا سرم بیمار اضافه کرده و خوب هم می زنیم سپس ۵۰ لاندا از مخلوط موجود در خانه دوم را برداشته و در خانه سوم می ریزیم و هم می زنیم س از هم زدن مجدداً ۵۰ لاندا از آن را برداشته و در خانه چهارم می ریزیم این عمل را تا خانه ششم ادامه می دهیم و در پایان ۵۰ لاندا از مخلوط جود در خانه ششم برداشته و دور می ریزیم سپس به هر کدام از خانه ها یک قطره آنتی ژن اضافه می کنیم و پس از مخلوط کردن ۲ دقیقه روی شیکر می گذاریم و پس از ۲ دقیقه در زیر نور مشاهده می نمائیم رقت شش خانه به ترتیب به صورت زیر می باشد.

۱	۲	۳	۴	۵	۶
۳۰۰	۶۰۰	۱۲۰۰	۲۴۰۰	۴۸۰۰	۹۶۰۰

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از کنترل های مثبت و منفی استفاده نمائید.
 نکته ۱: در صورت غیر نرمال بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.
 نکته ۲: در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

WRIGHT

جمع آوری نمونه :

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در 8°C -۲ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در 20°C - نگهداشته شود.
- از پلاسما استفاده نشود.
- از مصرف سرم های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف های مورد نیاز:

* آنتی ژن رزبنگال

آنتی ژن Wright

سرم فیزیولوژی

لوازم مورد نیاز:

- ۱- اسلاید
- ۲- سمپلر
- ۳- شیکر
- ۴- چراغ مطالعه
- ۵- انکوباتور 37°C

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۶

*** استفاده از رزبنگال طبق دستورالعمل ابلاغی از طرف اداره بهداشت فعلاً ممنوع می باشد.**

(۱) روش اسلاید (روش آگلوتیناسیون سریع)

برروی اسلاید مقادیر ۱۰ لاند- ۲۰ لاند و ۵۰ لاند از سرم بیمار را می ریزیم سپس به هر کدام یک قطره معرف رزبنگال اضافه می کنیم و خوب هم می زنیم سپس به مدت ۳ دقیقه روی شیکر می گذاریم بعد از ۳ دقیقه نتیجه آزمایش را بررسی می کنیم. هر کدام از رقت ها که آگلوتیناسیون داشته باشد باید برای بیمار به صورت لوله هم تست را انجام بدهیم. در این روش رقت ها به ترتیب معادل ۱/۴۰ - ۱/۸۰ و ۱/۱۶۰ هستند.

* استفاده از رزبنگال طبق دستورالعمل ابلاغی از طرف اداره بهداشت فعلاً ممنوع می باشد.

(۲) روش لوله (کند)

تعداد ۱۰ لوله برداشته و روی آنها به ترتیب رقت های زیر را یادداشت می نمائیم:

۱/۱۰۲۴۰ - ۱/۵۱۲۰ - ۱/۲۵۶۰ - ۱/۱۲۸۰ - ۱/۶۴۰ - ۱/۳۲۰ - ۱/۱۶۰ - ۱/۸۰ - ۱/۴۰ - ۱/۲۰

حال در لوله اولی ۱۰۰۰ لاند و در بقیه لوله ها ۵۰۰ لاند سرم فیزیولوژی می ریزیم سپس از لوله اولی ۵۰ لاند سرم فیزیولوژی برداشته و به جای آن ۵۰ لاند از سرم بیمار اضافه می کنیم و خوب هم می زنیم تا کاملاً مخلوط شود بعد از این مخلوط ۵۰۰ لاند برمی داریم و به لوله دوم اضافه می کنیم و هم می زنیم از این لوله هم ۵۰۰ لاند برداشته و به لوله سوم اضافه می نمائیم و به همین ترتیب ادامه می دهیم تا لوله آخر، از لوله آخری ۵۰۰ لاند برداشته و دور می ریزیم سپس به هر لوله ۵۰۰ ساعت آنتی ژن **wright** لوله ای اضافه کرده و مخلوط می نمائیم سپس در لوله ها رami بندیم و در ۳۷ درجه می گذاریم بعد از مدت ۲۴-۴۸ ساعت لوله ها را از ۳۷ درجه درمی آوریم و در زیر نور از نظر آگلوتیناسیون بررسی می کنیم و جواب آزمایش را با توجه به رقت های تهیه شده گزارش می کنیم.

نحوه گزارش جواب:

Positive $\geq 1/80$

Negative $< 1/80$

نحوه کنترل کیفی:

سرم بیمارانی را که آزمایش **Wright** آنها مثبت است را به مقادیری که هر بار برای آزمایش نیاز است تقسیم کرده و در فریزر نگهداری می کنیم و هر یک روز در میان به عنوان کنترل از آن استفاده می نمائیم.

نکته: در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

۲ME

جمع آوری نمونه:

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد (از پلاسما استفاده نشود).

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۷

- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در $2-8^{\circ}\text{C}$ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در -20°C نگهداشته شود.
- از مصرف سرم های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف های مورد نیاز :

بافر ۲ME

آنتی ژن ۲ME

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- چراغ مطالعه

۳- انکوباتور 37°C

۴- بن ماری 37°C

۵- سانتریفوژ

۶- لوله

روش انجام آزمایش :

۱۰ لوله برمی داریم و روی آنها رقت های زیر را می نویسیم :

$1/40 - 1/80 - 1/160 - 1/320 - 1/640 - 1/1280 - 1/2560 - 1/5120 - 1/10240$

حال در لوله اول ۱۰۰۰ لاندا و در بقیه لوله ها ۵۰۰ لاندا بافر ۲ME می ریزیم از لوله اول ۵۰ لاندا برداشته و به جای آن ۵۰ لاندا سرم بیمار اضافه کرده خوب هم می زنیم و به مدت یک ساعت در بن ماری 37°C درجه می گذاریم بماند پس از یک ساعت ۵۰۰ لاندا از آن را بر می داریم و به لوله دوم اضافه می کنیم و خوب مخلوط می کنیم از این لوله هم ۵۰۰ لاندا برداشته و به لوله سوم اضافه می نمائیم و به همین ترتیب ادامه می دهیم تا لوله آخر از لوله آخر ۵۰۰ لاندا برداشته و دور می ریزیم بعد به همه لوله ها ۵۰۰ ساعت آنتی ژن ۲ME اضافه کرده مخلوط می کنیم پس از آن در لوله ها را می بندیم و در 37°C درجه می گذاریم بعد از ۲۴ ساعت آنها را از 37°C درجه در آورده و در زیر نور از نظر وجود ۵۰ درصد شفافیت بررسی می نمائیم.

نحوه گزارش جواب :

Positive $\geq 1/40$

Negative $< 1/40$

نحوه کنترل کیفی :

سرم بیمارانی را که آزمایش Wright آنها مثبت است را به مقادیری که هر بار برای آزمایش نیاز است تقسیم کرده و در فریزر نگهداری می کنیم و هر یک روز در میان به عنوان کنترل از آن استفاده می نمائیم.

نکته : در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

COOMB'S WRIGHT

جمع آوری نمونه :

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد (از پلاسما استفاده نشود) .
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی گیرد تا ۴۸ ساعت در 8°C -۲ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در 20°C - نگهداشته شود.
- از مصرف سرم های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف های مورد نیاز :

آنتی ژن Wright

سرم فیزیولوژی

آنتی هیومن گلوبولین

لوازم مورد نیاز :

- ۱- سمپلر
- ۲- چراغ مطالعه
- ۳- انکوباتور 37°C
- ۴- بن ماری 37°C
- ۵- سانتریفوژ
- ۶- لوله

روش انجام آزمایش :

مراحل اولیه دقیقاً مانند Wright می باشد اما پس از اینکه لوله ها را سانتریفوژ کردیم مایع رویی را خالی می نمائیم سپس با تکان دادن لوله رسوب کف لوله را هم می زنیم بعد لوله ها را ۲ بار با سرم فیزیولوژی شستشو می دهیم در پایان شستشو نم لوله ها را با برگرداندن لوله ها روی یک گاز می گیریم بعد رسوب لوله ها را هم می زنیم به هر کدام از لوله ها یک قطره آنتی هیومن اضافه می کنیم و مجدداً در لوله ها را بسته و در 37°C درجه می گذاریم بعد از ۲۴ ساعت دوباره لوله ها را در آورده و به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم و در زیر نور از نظر آگلوتیناسیون بررسی می کنیم.

نحوه گزارش جواب:

آزمایش Coombs Wright با فاصله ۳ رقت بالاتر از Wright مثبت تلقی می شود (این مرحله در نمونه های با رایت ضعیف و منفی بیشترین ارزش را دارد). به عنوان مثال چنانچه آزمایش اولیه رایت دارای تیتراژ ۱/۸۰ باشد، کومبس رایت ۱/۶۴۰ به عنوان مثبت تلقی می گردد.

- تیتراژ Coombs Wright با رقت ۳ برابر بالاتر از رایت به عنوان بیماری فعال تلقی می گردد.

- تیتراژ Coombs Wright با رقت کمتر از ۳ برابر رایت معمولاً بیماری فعال نیست.

نحوه کنترل کیفی:

سرم بیمارانی را که آزمایش Wright آنها مثبت است را به مقادیری که هر بار برای آزمایش نیاز است تقسیم کرده و در فریزر نگهداری می‌کنیم و هر یک روز در میان به عنوان کنترل از آن استفاده می‌نمائیم.
نکته: در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

WIDAL

جمع‌آوری نمونه:

- از سرم تازه حاصل از سانتریفوژ خون لخته استفاده گردد.
- چنانچه سرم در همان روز مورد استفاده قرار نمی‌گیرد تا ۴۸ ساعت در 8°C -۲ قابل نگهداری است و برای بیش از این مدت باید به صورت منجمد در 20°C - نگهداشته شود.
- از پلاسما استفاده نشود.
- از مصرف سرم‌های همولیز خودداری گردد.

مواد و معرف‌های موردنیاز:

کیت Widal حاوی آنتی‌ژن‌های OA -OB -OD -HA -HB و HD

لوازم موردنیاز:

- ۱- اسلاید
- ۲- سمپلر
- ۳- شیکر
- ۴- چراغ مطالعه
- ۵- سانتریفوژ
- ۶- لوله

(۱) روش اسلاید:

برروی یک اسلاید از سرم هر بیمار شش تا ۱۰ لاند، شش تا ۲۰ لاند و شش تا ۵۰ لاند می‌ریزیم سپس به هرسری ۲۰/۱۰ و ۵۰ لاندایی یک قطره از آنتی‌ژن‌های OA -OB -OD -HA -HB و HD اضافه می‌کنیم مانند جدول زیر:

OA	۵۰	۲۰	۱۰
OB	۵۰	۲۰	۱۰
OD	۵۰	۲۰	۱۰
HA	۵۰	۲۰	۱۰
HB	۵۰	۲۰	۱۰
HD	۵۰	۲۰	۱۰

سپس با اپلیکاتور خوب مخلوط کرده و به مدت ۳ دقیقه روی شیکر می‌گذاریم پس از ۳ دقیقه زیر نور از نظر آگلوتیناسیون بررسی می‌نمائیم. در صورت مثبت بودن هر کدام از آنتی‌ژن‌ها باید برای آنها به روش لوله هم تست را

انجام بدهیم. اگر آنتی ژنی فقط O آن مثبت بود باید H مربوط به آن را هم بگذاریم مثلاً اگر OD مثبت بود باید علاوه بر OD برای آن HD را هم به روش لوله بگذاریم.

(۲) روش لوله:

در روش لوله ابتدا باید آنتی ژن را بسازیم برای تهیه آن باید آنتی ژنی را که اسلاید آن مثبت بوده است به نسبت ۱/۲۰ با سرم فیزیولوژی رقیق نمائیم مثلاً برای ۱۰ لوله مقدار ۵۰۰۰ لاندا (۵CC) سرم فیزیولوژی را در یک لوله ریخته و ۲۵۰ لاندا از آن را دور ریخته و به جای آن ۲۵۰ لاندا از آنتی ژن مورد نظر را که در روش اسلاید مثبت بوده است به آن اضافه می کنیم حالا تعداد ۱۰ لوله را برداشته و به ترتیب روی آنها رقت های زیر را یادداشت می کنیم:

۱/۲۰-۱/۴۰-۱/۸۰-۱/۱۶۰-۱/۳۲۰-۱/۶۴۰-۱/۱۲۸۰-۱/۲۵۶۰-۱/۵۱۲۰-۱/۱۰۲۴۰

حالا در لوله اولی ۱۰۰۰ لاندا و لوله های دیگر ۵۰۰ ساعت سرم فیزیولوژی می ریزیم سپس ۱۰۰ لاندا از لوله اول برداشته و به جای آن ۱۰۰ لاندا از سرم بیمار به آن اضافه می کنیم و خوب مخلوط می نمائیم.

بعد ۵۰۰ لاندا از آن را برداشته و به لوله دوم اضافه کرده و پس از مخلوط کردن ۵۰۰ لاندا از این لوله هم برداشته و به لوله سوم اضافه می نمائیم و به همین ترتیب ادامه می دهیم تا لوله آخر در پایان ۵۰۰ لاندا از لوله آخر برداشته و دور می ریزیم حالا به هر کدام از لوله ها ۵۰۰ لاندا از آنتی ژنی را که ساخته ایم اضافه کرده در لوله ها را چسب زده و در ۳۷ درجه می گذاریم پس از مدت ۲۴ ساعت لوله ها را در آورده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم و بعد در زیر نور از نظر آگلوتیناسیون بررسی می کنیم.

نحوه گزارش جواب :

با توجه به کلینیک بیمار تیتراژ آنتی ژنهای O از ۱/۸۰ به بالا مثبت تلقی می شوند.

نحوه کنترل کیفی :

سرم بیمارانی را که آزمایش Widal آنها مثبت است را به مقادیری که هر بار برای آزمایش نیاز است تقسیم کرده و در فریزر نگهداری می کنیم و هر یک روز در میان به عنوان کنترل از آن استفاده می نمائیم.
نکته : در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

DIRECT COOMB'S (کومبز مستقیم):

جمع آوری نمونه:

نمونه خون بیمار درصد انعقاد EDTA یا سیترات سدیم.

مواد و معرف های مورد نیاز:

۱- آنتی هیومن گلوبولین انسانی (AHG)

۲- سرم فیزیولوژی

لوازم مورد نیاز:

۱- سمپلر

۲- سانتریفوژ

۳- میکروسکپ

۴- لوله

روش انجام آزمایش:

۱) مقداری از خون بیمار را در یک لوله آزمایش ریخته و ۳ بار به وسیله سرم فیزیولوژی شستشو می دهیم در مرحله سوم شستشو پس از خالی کردن سرم فیزیولوژی نمونه باقیمانده در ته لوله را خوب هم می زنیم و سپس با اضافه کردن سرم فیزیولوژی به آن سوسپانسیون ۲-۵ درصد تهیه می کنیم. و سپس ۱۰۰ لانداز سوسپانسیون ۲-۵ درصد در لوله ریخته و ۱۰۰ لانداز آنتی هیومن به آن اضافه کرده و یک ساعت در ۳۷ درجه قرار می دهیم.

۲) لوله را بیرون آورده به آرامی تکان می دهیم مقداری از آن را بر روی لام ریخته و در زیر میکروسکوپ مشاهده می کنیم در صورتی که واکنش آگلوتیناسیون مشاهده شود نتیجه آزمایش مثبت گزارش می شود.

۳) چنانچه واکنش آگلوتیناسیون مشاهده نشود لوله را به مدت ۶۰ ثانیه با دور ۱۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ می کنیم چنانچه در این مرحله واکنش آگلوتیناسیون مشاهده شود نتیجه آزمون را مثبت گزارش می کنیم در غیر این صورت منفی می باشد.

INDIRECT COOMB'S (کومبز غیر مستقیم)

جمع آوری نمونه:

نمونه مورد نیاز در این آزمایش سرم است.

مواد و معرف های مورد نیاز:

۱- آنتی هیومن گلوبولین

۲- گلوبول های O+

۳- سرم فیزیولوژی

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- سانتریفوژ

۳- بن ماری ۳۷ درجه

۴- میکروسکپ

روش انجام آزمایش:

۱) ابتدا گلوبول های O+ را ۲-۳ بار با سرم فیزیولوژی شستشو می دهیم سپس سوسپانسیون ۲-۵ درصد تهیه می کنیم.

۲) دو حجم سرم بیمار را با یک حجم از سوسپانسیون مخلوط کرده و به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه قرار می دهیم.

۳) لوله آزمایش را از بن ماری بیرون آورده و با دور ۱۰۰۰ به مدت ۶۰ ثانیه سانتریفوژ کرده و در زیر میکروسکوپ از نظر آگلوتیناسیون بررسی می کنیم.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۱۲

۴) در صورت واکنش منفی ۳-۴ بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده در مرحله آخر شستشو کاملاً سرم فیزیولوژی را خارج می‌کنیم و با واژگون کردن لوله آزمایش بر روی یک پارچه تمیز آخرین قطره سرم فیزیولوژی را خارج می‌کنیم.

۵) یک الی دو قطره آنتی هیومن گلوبولین به لوله اضافه کرده و به مدت یک ساعت در ۳۷ درجه قرار داده و سپس از نظر وجود آگلوتیناسیون بررسی کرده در صورت عدم آگلوتیناسیون لوله را به مدت ۶۰ ثانیه با دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ می‌کنیم و مجدداً در زیر میکروسکوپ از نظر آگلوتیناسیون بررسی می‌کنیم در صورت مشاهده آگلوتیناسیون جواب آزمایش مثبت می‌باشد.

آگلوتینین های سرد (Cold Agglutinin Test)

اساس آزمایش:

رقت‌های مختلفی از سرم بیمار را با مقدار ثابتی از گلبول‌های قرمز گروه خونی O انسان در یخچال قرار می‌دهند در صورتی که سرم بیمار حاوی آگلوتینین سرد باشد به طور قابل برگشت با گلبول‌های قرمز واکنش نشان می‌دهد.

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده سرم و یا پلاسما بیمار باید فاقد هرگونه گلبول‌های قرمز لیز شده باشد و به علاوه نباید برای از بین بردن کمپلمان حرارت داده شود. برای جدا کردن سرم یا پلاسما از گلبول‌ها، حرارت خون باید حداقل معادل درجه حرارت آزمایشگاه باشد. چنانچه خون در یخچال باشد باید قبل از جدا کردن سرم یا پلاسما از آن کاملاً گرم شود (به طور نسبی برای گرم کردن هفت میلی‌لیتر خون، باید حدود یک ساعت آنرا در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داد. سرم یا پلاسما جدا شده را باید تا زمان انجام آزمایش در منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری کرد و هیچ وقت بیش از یک بار آن را نباید منجمد کرد.

مواد و معرف‌های مورد نیاز:

۱- گلبول‌های قرمز گروه خونی O. (می‌توانیم از نمونه‌های CBC افراد با گروه خونی O استفاده نمائیم) چون گلبول‌های قرمز گروه O بعضی از افراد بهتر جواب می‌دهند بهتر است خون چند نفر با گروه خونی O را باهم مخلوط کرد گلبول‌های قرمز باید تازه باشند ولی اگر در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شوند تا ۲ روز هم قابل استفاده می‌باشند البته از گلبول‌های قرمز خود بیمار هم در صورتی که تمام مراحل جدا کردن و شستن گلبول‌ها در ۳۷ درجه سانتیگراد انجام شود می‌توان استفاده کرد (این حرارت برای این است که آگلوتینین‌های سرد بیمار به گلبول‌های قرمز خودش متصل نشوند).

۲- سرم کنترل مثبت: چندین سرم مثبت را روی هم ریخته و در شیشه‌های کوچک به حجم نیم میلی‌لیتر سریعاً در منهای ۲۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری کنید سپس تیتراژ این سرم مخلوط را معلوم کرده و تا زمانی که قدرت مناسب دارد قابل استفاده می‌باشد.

۳- سرم فیزیولوژی ۰.۹ درصد نمک طعام

لوازم مورد نیاز:

۱- یخچال ۴ درجه سانتیگراد

۲- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد

۳- لوله آزمایش ۱۰۰*۱۲

۴- سانتریفوژ

روش انجام آزمایش:

۱- گلبول‌های قرمز گروه خون O انسان را حداقل سه بار با سرم فیزیولوژی در سانتریفوژ بشوئید. مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر (۲۰۰ لاندا) از این گلبول‌های شسته و فشرده شده (packed cells) را با پیپت برداشته و حجم آنرا با سرم فیزیولوژی به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسانید.

۲- هشت لوله آزمایش ۱۲*۱۰۰ میلی‌لیتری را در یک ردیف برای سرم بیمار و هشت لوله دیگر را برای کنترل مثبت قرار دهید.

۳- در لوله‌های شماره ۱ مقدار ۰/۶ میلی‌لیتر (۶۰۰ لاندا) و در لوله‌های دوم تا هشتم ۰/۴ میلی‌لیتر (۴۰۰ لاندا) سرم فیزیولوژی بریزید این عمل را برای هر دو ردیف لوله‌ها (بیمار و کنترل) انجام دهید.

۴- مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر (۲۰۰ لاندا) سرم یا پلاسما بیمار را به لوله اول اضافه کرده و پس از مخلوط کردن مقدار ۰/۴ میلی‌لیتر (۴۰۰ لاندا) آنرا برداشته و به لوله دوم اضافه کنید همین عمل را تا لوله هفتم ادامه دهید و از لوله هفتم ۴۰۰ لاندا برداشته و دور بریزید. لوله هشتم به عنوان کنترل منفی می‌باشد. همین رقت‌ها را با سرم کنترل مثبت برای ردیف دوم لوله‌ها انجام دهید.

۵- مقدار ۰/۴ میلی‌لیتر (۴۰۰ لاندا) از سوسپانسیون گلبول‌های قرمز به هر لوله اضافه کنید. تیتز نهایی سرم در لوله‌ها به ترتیب ۱:۸ ۱:۱۶ ۱:۳۲ و غیره می‌باشد.

۶- لوله‌ها را در یخچال به مدت یک شب قرار دهید.

۷- صبح اول وقت لوله‌ها را از یخچال بیرون آورده و نتیجه آگلوتیناسیون را بلافاصله خوانده و یادداشت نمائید، چنانچه لوله‌ها گرم شوند احتمال دارد تیتز آگلوتینین کمتری از بین برود. تیتز نهایی سرم عبارتست از آخرین رقت سرمی که آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز در سرما به طور واضح در آن دیده می‌شود.

۸- هر گونه آگلوتیناسیونی در لوله‌ها مشاهده نمودید باید قبل از اینکه نتیجه آزمایش را گزارش کنید لوله‌ها را در ۳۷ درجه سانتیگراد گرم کنید تا گلبول‌ها آزاد شده و مطمئن شوید که آگلوتیناسیونی را که در لوله‌ها مشاهده نموده اید مربوط به آگلوتینین سرد می‌باشد.

نحوه کنترل کیفی:

در هر سری کاری از کنترل مثبت استفاده نمائید. معمولاً بهتر است دو نمونه سرم بیمار را به فاصله یک تا دو هفته از یکدیگر گرفته و سپس در یک زمان با هم و با یک نوع گلبول‌های قرمز آزمایش کرده و تیتز آنها را با یکدیگر مقایسه کرد.

گزارش آزمایش:

کسر یا مخرج کسر آخرین رقت سرم بیمار که در یخچال گلبول‌های قرمز را آگلوتینه کرده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گلبول‌ها را آزاد نموده است به عنوان تیتز آگلوتینین سرد سرم بیمار گزارش می‌شود. در صورتی که هیچ آگلوتیناسیونی مشاهده نشد، جواب آزمایش منفی خواهد بود.

مقادیر نرمال:

*به طور طبیعی تیتراژ آگلوتینین سرد در افراد سالم کمتر از ۶۴ می باشد. تیتراژ بالاتر از ۶۴ دلالت بر یک بیماری دارد.

Pregnancy روش مستقیم با کیت امگا

جمع آوری نمونه:

- جهت انجام آزمایش اولین ادرار صبحگاهی که حاوی HCG بیشتری می باشد توصیه می شود. لازم است که نمونه های ادرار در ظروف خشک و تمیز بدون مواد شوینده جمع شوند.
- بسیار ضروری است که نمونه کاملاً شفاف باشد چون مواد نا محلول نتایج کاذب ایجاد می نمایند بنابراین بهتر است که نمونه ها با دور بالا سانتریفوژ شوند.
- توصیه می شود که نمونه ها بلافاصله پس از جمع آوری تست شوند یا اینکه در یخچال قرار داده شوند در این صورت به مدت ۲۴ ساعت پایدار خواهند بود برای مدت های طولانی تر لازم است که به نمونه ها ۰.۱ درصد Sodiumazide اضافه شود یا در ۲۰ °C - فریز شوند.
- وجود خون یا آلودگی های میکروبی می توانند باعث ایجاد نتایج غلط بشوند.

مواد و معرف های مورد نیاز:

کیت حاوی محلول های زیر:

- | | |
|--------------|----------------------------|
| معرف شماره ۱ | محلول آنتی بادی مونوکلونال |
| معرف شماره ۲ | سوسپانسیون لاتکس |
| معرف شماره ۳ | کنترل مثبت |
| معرف شماره ۴ | کنترل منفی |

لوازم مورد نیاز:

- ۱- اسلاید
- ۲- سمپلر
- ۳- شیکر
- ۴- چراغ مطالعه

روش انجام آزمایش:

- قبل از شروع آزمایش باید اسلاید و نمونه ادرار به درجه حرارت اتاق برسند. رساندن سوسپانسیون لاتکس و محلول آنتی بادی به درجه حرارت اتاق ضروری نمی باشد.
- ۱- بر روی یک اسلاید مقدار یک قطره کنترل مثبت، یک قطره کنترل منفی و ۵۰ لاند نمونه بیمار را ریخته سپس یک قطره از محلول آنتی بادی را در حالی که ویال حاوی آن به طور عمودی نگهداشته شده در کنار آنها بچکانید.
 - ۲- با استفاده از همزن پلاستیکی، قطرات را طوری مخلوط نمائید تا کاملاً سطح داخلی دایره را پوشانده و حداقل برای مدت ۳۰ ثانیه به صورت دورانی در دست یا با استفاده از روتاتور حرکت دهید.
 - ۳- سوسپانسیون لاتکس را به آرامی تکان دهید و یک قطره از آن را به هر یک از نمونه ها بچکانید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۱۵

۴- با استفاده از همزن پلاستیکی، قطرات را مخلوط کرده و در سطح دایره ها پخش نمائید.

۵- اسلاید را مجدداً به صورت دورانی برای مدت ۲ دقیقه حرکت دهید.

۶- میزان آگلوتیناسیون را به صورت زیر گزارش کنید:

- | | |
|---------------------------------|-------|
| بدون آگلوتیناسیون و کاملاً شیری | منفی |
| آگلوتیناسیون مشخص | مثبت |
| آگلوتیناسیون ضعیف | مشکوک |

نحوه کنترل کیفی:

در هر سری کاری از کنترل‌ها مثبت و منفی استفاده نمائید.

نکته : در صورت نیاز به اطلاعات بیشتر به بروشور مراجعه شود.

منابع و امکانات: سانتریفوژ- بن ماری- انواع سمپلر و لوله -روتاتور-انکوباتور
پرسنل: کلیه پرسنل

دستورالعمل انجام آزمایشات هورمون:

T₃ (MONOKIT)

A: ۰ B: ۰,۵ C: ۱ D: ۲,۵ E: ۵ F: ۷,۵

جمع آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت:

۱- استاندارد: ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد:

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Conjugate Buffer (بافر کنژوگه)

۴- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

۵- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک‌ها)

۶- Substrate

۷- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز:

۱- سمپلر

۲- الایزا

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۱۶

آماده سازی محلول ها:

۱- آماده سازی محلول شستشو:

محلول شستشورا به نسبت ۱/۴۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۰۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.

۲- رقیق سازی کنژوگه:

کنژوگه غلیظ را به تعداد چاهک های مورد نیاز به نسبت ۱ به ۱۱ با بافر کنژوگه رقیق نمائید.

۳- آماده سازی سوبسترا:

آماده مصرف می باشد.

مراحل انجام آزمایش:

۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه ای که تهیه کرده بودید به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم ها مخلوط شود سپس سطح چاهک ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک ها تبخیر نگردد.

۴- پلیت را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ انکوبه کنید.

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد.

۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده شده (را به همه چاهک ها اضافه کنید و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.

۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.

۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

مقادیر نرمال:

مقدار نرمال برای خانم ها و آقایان $0.8 - 2.1$ می باشد.

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

T4 (MONOKIT)

جمع آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می باشد که باید سریع جدا شده و در $4-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می باشد اگر بخواهیم مدت طولانی تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در 20°C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می باشد.

مواد موجود در کیت:

- ۱- استاندارد: ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت های مختلف زیر می باشد:
A: ۰ B: ۲ C: ۵ D: ۱۰ E: ۱۵ F: ۲۵
- ۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)
- ۳- Conjugate Buffer (بافر کنژوگه)
- ۴- Antibody Coated Microplate (چاهک ها)
- ۵- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک ها)
- ۶- Substrate
- ۷- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز:

- ۱- سمپلر
- ۲- الایزا

آماده سازی محلول ها:

- ۱- آماده سازی محلول شستشو:
محلول شستشورا به نسبت ۱/۴۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ CC محلول را با آب مقطر به حجم ۲۰۰ CC برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.
- ۲- رقیق سازی کنژوگه:
کنژوگه غلیظ را به تعداد چاهک های مورد نیاز به نسبت ۱ به ۱۱ با بافر کنژوگه رقیق نمائید.
- ۳- آماده سازی سوپسترا:
آماده مصرف می باشد.

مراحل انجام آزمایش:

- ۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک ها بریزید.
- ۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه ای که تهیه کرده بودید به همه چاهک ها اضافه نمائید.
- ۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم ها مخلوط شود، سپس سطح چاهک ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک ها تبخیر نگردد.
- ۴- پلیت را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ انکوبه کنید.
- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد.
- لاندا از محلول سوپسترای آماده شده و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۱۸

- ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.
- ۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی بادست روی سطح میز تکان دهید.
- ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.
- مقادیر نرمال:

۴,۸ – ۱۱,۸ mic

۴,۴ – ۱۰,۸ mic

مردان:

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

TSH(Ideal)

جمع آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت:

۱- استاندارد: ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد:

A: ۰ B: ۰,۵ C: ۲,۵ D: ۵ E: ۱۵ F: ۳۰

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

۴- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک‌ها)

۵- Substrate

۶- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز:

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده‌سازی محلول‌ها:

۱- آماده‌سازی محلول شستشو:

محلول شستشورا به نسبت ۱/۴۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۰۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می‌باشد.

۲- آماده‌سازی سوبسترا:

آماده استفاده است.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۱۹

مراحل انجام آزمایش:

- ۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک‌ها بریزید.
 - ۲- ۵۰ لاندا از محلول کنژوگه TSH به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.
 - ۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم‌ها مخلوط شود سپس سطح چاهک‌ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد.
 - ۴- پلیت را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ انکوبه کنید.
 - ۱- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد.
 - ۲- ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده را به همه چاهک‌ها اضافه کنید و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.
 - ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.
 - ۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.
 - ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.
- مقادیر نرمال:

۰,۴ – ۶,۲۱ mic IU/ml

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

T^۳UP(pishtaz)

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت:

۱- استاندارد: ۴ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد:

A: ۱۸ B: ۲۵ C: ۳۵ D: ۴۷

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Conjugate Buffer (بافر کنژوگه)

۴- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۲۰

۵- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک ها)

۶- Substrate

۷- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم موردنیاز:

۱- سمپلر

۲- الایزا

۳- واشر الیزا

آماده سازی محلول ها:

۱- آماده سازی محلول شستشو:

محلول شستشورا به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.

۲- رقیق سازی کنژوگه:

کنژوگه غلیظ را به تعداد چاهک های موردنیاز به نسبت ۱ به ۱۱ با بافر کنژوگه رقیق نمائید. به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک، ۱۶۰ لاندا کنژوگه را با ۱.۶ ml بافر کنژوگه مخلوط نمائید. این مخلوط حداکثر ۲۴ ساعت پایدار می باشد.

۳- آماده سازی سوپسترا:

به میزان لازم حجم های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است. جهت آماده سازی به هیچ وجه از لوله های اسید واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش:

۱- ۲۵ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه ای که تهیه کرده بودید به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم ها مخلوط شود سپس سطح چاهک ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک ها تبخیر نگردد.

۴- پلیت را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می توانیم عمل شستشو را با دستگاه واشر انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است.

۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوپسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک ها ۵۰ لاندا سوپسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوپسترای B اضافه کرده و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.

۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲۱

۸- ۵۰ لاند از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۲۰-۱۵ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

۲۵ - ۳۸

مقادیر نرمال :

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمایید.

FT^۴ (mono bind)

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- استاندارد : ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد :

A : ۰ B : ۰,۵ C : ۱,۰۴ D : ۲,۱ E : ۳,۶ F : ۷

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

۴- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک‌ها)

۵- Substrate A , B (سوبسترای A و B)

۶- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز:

۱- سمپلر

۲- الیزا

۳- واکس الیزا

آماده‌سازی محلول‌ها:

۱- آماده‌سازی محلول شستشو:

محلول شستشورا به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ CC محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ CC برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می‌باشد.

۲- آماده‌سازی سوبسترا:

به میزان لازم حجم‌های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است.

جهت آماده‌سازی به هیچ وجه از لوله‌های اسید واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش:

- ۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک‌ها بریزید.
 - ۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه FT_۴ به همه چاهک‌ها اضافه نمایید.
 - ۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم‌ها مخلوط شود سپس سطح چاهک‌ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد
 - ۴- پلیت را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید
 - ۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمایید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می‌توانیم عمل شستشو را با دستگاه واش انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است.
 - ۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوپسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک‌ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک‌ها ۵۰ لاندا سوپسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوپسترای B اضافه کرده و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.
 - ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمایید.
 - ۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.
 - ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.
- مقادیر نرمال :

زنان و مردان	۰٫۸ – ۲ ng/dl	زنان باردار	۰٫۸ – ۲٫۲ ng/dl
--------------	---------------	-------------	-----------------

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

FSH (Pishtaz)

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت:

۱- استاندارد : ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد :

A : ۰ B : ۵ C : ۱۰ D : ۲۵ E : ۵۰ F : ۱۰۰

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۲۳

۴- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک ها)

۵- Substrate A , B (سوبسترای A و B)

۶- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز:

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده سازی محلول ها:

۱- آماده سازی محلول شستشو:

محلول شستشو را به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.

۲- آماده سازی سوبسترا:

به میزان لازم حجم های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است. جهت آماده سازی به هیچ وجه از لوله های اسید واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش:

۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه FSH به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم ها مخلوط شود و سپس سطح چاهک ها را بیوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک ها تبخیر نگردد.

۴- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می توانیم عمل شستشو را با دستگاه واش انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است.

۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک ها ۵۰ لاندا سوبسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوبسترای B اضافه کرده و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.

۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.

۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی بادست روی سطح میز تکان دهید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰ nm) بخوانید. قرائت نمونه ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲۴

مقادیر نرمال : مردان

۱ - ۱۴ mic IU/ml

زنان

Follicular phase	۳ - ۱۲ mIU/ml
Midcycle	۸ - ۲۲ mIU /ml
Luteal phase	۲ - ۱۲ mIU /ml
Post menopausal	۳۵ - ۱۵۱ mIU /ml

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

LH (Pishtaz)

جمع آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می باشد که باید سریع جدا شده و در $2-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می باشد اگر بخواهیم مدت طولانی تری سرم را نگهداری کنیم باید آنرا در -20°C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- استاندارد : ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت های مختلف زیر می باشد :

A : ۰ B : ۵ C : ۲۵ D : ۵۰ E : ۱۰۰ F : ۲۰۰

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Antibody Coated Microplate (چاهک ها)

۴- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک ها)

۵- Substrate A , B (سوبسترای A و B)

۶- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده سازی محلول ها :

۱- آماده سازی محلول شستشو :

محلول شستشورا به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.

۲- آماده سازی سوبسترا :

به میزان لازم حجم های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲۵

جهت آماده‌سازی به هیچ وجه از لوله‌های اسید واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش :

- ۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک‌ها بریزید.
- ۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه LH به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.
- ۳- پلیت رابرای ۳۰-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم‌ها مخلوط شود سپس سطح چاهک‌ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد.
- ۴- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
- ۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می‌توانیم عمل شستشو را با دستگاه و اشر انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است).
- ۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک‌ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک‌ها ۵۰ لاندا سوسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوسترای B اضافه کرده و ۳۰-۲۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.
- ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.
- ۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۲۰-۱۵ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.
- ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

۰,۷ – ۷,۴ m IU/ml

مقادیر نرمال : مردان

Follicular phase	۰,۵ – ۱۰,۵ mIU/ml
Midcycle	۱۸,۴ – ۶۱,۲ mIU /ml
Luteal phase	۰,۵ – ۱۰,۵ mIU /ml
Post menopausal	۸,۲ – ۴۰,۸ mIU /ml

زنان

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

PROLACTIN (Pishtaz)

جمع‌آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۲۶

مواد موجود در کیت :

۱- استاندارد : ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت های مختلف زیر می باشد :

A : ۰ B : ۵ C : ۱۰ D : ۲۵ E : ۵۰ F : ۱۰۰

۲- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۳- Antibody Coated Microplate (چاهک ها)

۴- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک ها)

۵- Substrate A , B (سوبسترای A و B)

۶- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده سازی محلول ها :

۱- آماده سازی محلول شستشو :

محلول شستشورا به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می باشد.

۲- آماده سازی سوبسترا :

به میزان لازم حجم های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است.

جهت آماده سازی به هیچ وجه از لوله های اسید واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش :

۱- ۵۰ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از محلول کنژوگه prol به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۳- پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم ها مخلوط شود سپس سطح چاهک ها را بیوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک ها تبخیر نگردد

۴- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می توانیم عمل شستشو را با دستگاه و اشرا انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است.

۶- ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک ها ۵۰ لاندا سوبسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوبسترای B اضافه کرده و ۲۰-۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.

۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲۷

۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به آرامی بادست روی سطح میز تکان دهید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

مقادیر نرمال : مردان

۱,۸ – ۲۰ ng/ml

۱۳ – ۱۸ Years old ۰ – ۵۱ ng/ml

Adult ۱,۲ – ۲۸,۵ ng/ml

Post Menopausal ۱,۵ – ۱۸,۵ ng/ml

زنان

نکته: در صورت خارج از

Ferritin (Monobind)

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم می‌باشد که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۴۸ ساعت (۲ روز) می‌باشد اگر بخواهیم مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنیم باید آن را در -۲۰ °C فریز نمائیم در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت:

۱- استاندارد : ۶ ویال حاوی استاندارد با غلظت‌های مختلف زیر می‌باشد :

A : ۰ B : ۱۰ C : ۵۰ D : ۱۵۰ E : ۴۰۰ F : ۸۰۰

۲- Biotin Antibody (بافر سبز رنگ)

۳- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه محلول قرمز رنگ)

۴- Antibody Coated Microplate (چاهک‌ها)

۵- Wash Solution (محلول شستشوی چاهک‌ها)

۶- Substrate A , B (سوبسترای A و B)

۷- Stop Solution (محلول Stop)

لوازم موردنیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا آماده‌سازی محلول‌ها :

۱- آماده‌سازی محلول شستشو :

محلول شستشورا به نسبت ۱/۵۰ رقیق نمائید مثلاً ۵ cc محلول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ cc برسانید. این محلول تا پایان زمان انقضاء در دمای اتاق قابل نگهداری می‌باشد.

۲- آماده‌سازی سوبسترا :

به میزان لازم حجم‌های مساوی از محلول A و B را با هم مخلوط نمائید و یک ربع در محیط تاریک قرار دهید به عنوان مثال جهت ۱۶ چاهک ۱ ml محلول A و ۱ ml محلول B کافی است. جهت آماده‌سازی به هیچ وجه از لوله‌های اسید

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۲۸

واش استفاده نکنید. محلول فوق حداکثر ۲۴ ساعت پایدار بوده و حتماً باید در محیط تاریک و یا ویال کدر نگهداری شود.

مراحل انجام آزمایش :

- ۱- ۲۵ لاندا از نمونه، استاندارد و یا کنترل را در داخل چاهک‌ها بریزید.
- ۲- ۱۰۰ لاندا از محلول Biotin (محلول سبز رنگ) به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.
- ۳- پلیت را برای ۳۰-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا بافر به خوبی با سرم‌ها مخلوط شود سپس سطح چاهک‌ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد.
- ۴- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
- ۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می‌توانیم عمل شستشو را با دستگاه واشر انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است).
- ۶- ۱۰۰ لاندا از محلول آنزیم کنژوگه (محلول قرمز رنگ) را به همه چاهک‌ها اضافه کنید.
- ۷- پلیت را برای ۳۰-۲۰ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید تا کنژوگه به خوبی با سرم‌ها مخلوط شود سپس سطح چاهک‌ها را بپوشانید تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد.
- ۸- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید
- ۹- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۳ مرتبه انجام پذیرد. (می‌توانیم عمل شستشو را با دستگاه واشر انجام دهیم در این صورت باید برنامه شماره ۹ را انتخاب نمائیم که ۳ مرتبه شستشو است).
- ۱۰- ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده شده (مخلوط A و B) را به همه چاهک‌ها اضافه کنید یا اینکه ابتدا به همه چاهک‌ها ۵۰ لاندا سوبسترای A و سپس ۵۰ لاندا سوبسترای B اضافه کرده و ۳۰-۲۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید تا با هم مخلوط شوند.
- ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه نمائید.
- ۸- ۵۰ لاندا از محلول Stop را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۲۰-۱۵ ثانیه به آرامی با دست روی سطح میز تکان دهید.
- ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

۱۰ – ۱۲۴ ng/ml

زنان

۱۶ – ۲۲۰ ng/ml

مقادیر نرمال : مردان

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید. (در صورت بالا بودن تکرار با رقت)

PSA (Pishtaz)

جمع‌آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم است که باید سریع جدا شده و در $4-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می باشد اگر بخواهید مدت طولانی تری سرم را نگهداری کنید باید آنرا در 20°C فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- استاندارد :

۶ ویال با غلظت های مختلف 30 ng/ml - $60-10-2-1$ استاندارد ها نیاز به رقت ندارند و آماده برای کار هستند.

۲- Control (High و Low)

۳- Microtiterwells (چاهک ها)

۴- Wash Buffer (محلول شستشو)

۵- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۶- Biotin Anti - PSA

۷- Substrate Solution

۸- Stop Solution

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده سازی محللول ها :

آماده سازی محللول شستشو :

محللول شستشوی غلیظ را به نسبت (۲۵ x) با آب مقطر رقیق نمائید (مثلاً 5 ml از محللول را با

آب مقطر به حجم 125 ml برسانید یعنی 5 ml از محللول با 120 ml آب مقطر)

آماده سازی کنژوگه :

محللول غلیظ کنژوگه را با توجه به تعداد بیماران به نسبت 20 x با Butin رقیق نمائید مثلاً 5 لاند از محللول غلیظ را با 100 لاند Butin مخلوط کنید.

مراحل انجام آزمایش :

۱- ابتدا همه چاهک هایی را که برای آزمایش جدا کرده اید یک بار با محللول Wash رقیق شده بشوئید.

۲- 25 لاند از هر کدام از استانداردها و کنترل ها و نمونه های بیماران در چاهک ها بریزید.

۳- 100 لاند آنزیم کنژوگه رقیق شده به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۴- پلیت را برای مدت 60 دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمائید.

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس 300 لاند از محللول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید 6 مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و با چند ضربه ملایم نم چاهک ها را بگیرید.

۶- 100 لاند سوپسترا به همه چاهک ها اضافه کنید.

۷- پلیت را به مدت 15 در دمای اتاق و در جای تاریک انکوبه نمائید.

۸- به هر کدام از چاهک ها 100 لاند محللول Stop اضافه نمائید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۳۰

۹ - پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید. قرائت نمونه‌ها باید حداکثر تا ۱۵ دقیقه پس از افزودن محلول Stop صورت پذیرد.

مقادیر نرمال :

Negative < ۴ ng/ml Equivocal ۴ - ۱۰ ng/ml Positive > ۱۰ ng/ml

نحوه کنترل کیفی :

در ررسی کاری از کنترل‌های High و Low استفاده نمائید.
نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

HCG Rapid (پیش‌تاز طب)

جمع‌آوری نمونه:

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم و یا پلاسماست که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می‌باشد اگر بخواهید مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنید باید آنرا در ۲۰- °C فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت :

۱ - استاندارد :

۶ ویال با غلظت‌های مختلف ۲۰۰ IU/L ۰.۱۰۲۵۱۰۰۴۰۰

استاندارد ها نیاز به رقت ندارند و آماده برای کار هستند.

۲ - Control

۳ - Microtiterwells (چاهک‌ها)

۴ - Wash Buffer (محلول شستشو)

۵ - Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۶ - Substrate Solution

۷ - Stop Solution

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده‌سازی محلول‌ها :

آماده‌سازی محلول شستشو :

محلول شستشوی غلیظ را به نسبت (۲۰ x) با آب مقطر رقیق نمائید (مثلاً ۵ ml از محلول را با آب مقطر به حجم ۱۰۰ ml برسانید یعنی ۵ ml از محلول با ۹۵ ml آب مقطر)

مراحل انجام آزمایش :

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۳۱

۱- ۵۰ لاندا از هر کدام از استانداردها و کنترل‌ها و نمونه‌های بیماران در چاهک‌ها بریزید.

۲- پلیت را به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمائید.

۳- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و باچند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.

۴- ۵۰ لاندا آنزیم کنژوگه به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.

۵- پلیت را برای مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمائید.

۶- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و باچند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.

۷- ۱۰۰ لاندا سوپسترا به همه چاهک‌ها اضافه کنید.

۸- پلیت را به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و در جای تاریک انکوبه نمائید.

۹- به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ لاندا محلول Stop اضافه نمائید.

۱۰- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید.

مقادیر نرمال :

Negative < ۱۰ IU/L

Equivocal ۱۰ - ۵۰ IU/L

Positive > ۵۰ IU/L

نحوه کنترل کیفی : در هر سری کار از کنترل موجود در کیت استفاده نمائید.

HBS Ag (پیش‌تاز طب)

جمع‌آوری نمونه :

در این آزمایش هم از سرم و هم از پلاسما تهیه شده با EDTA و هیپارین می‌توان استفاده کرد سرم و یا پلاسما باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می‌باشد اگر بخواهید مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنید باید آن را در ۲۰- °C فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- Microtiter wells (چاهک‌ها)

۲- Positive Control

۳- Negative Control

۴- Wash Buffer (محلول شستشو)

۵- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۶- Substrate Solution

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۳۲

Stop Solution- ۷

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده سازی محلول ها :

آماده سازی محلول شستشو :

محلول شستشوی غلیظ را به نسبت ۱۰X با آب مقطر رقیق نمائید.

مراحل انجام آزمایش :

۱- ۱۰۰ لاندا از هر کدام از کنترل ها و نمونه های بیماران در چاهک ها بریزید.

۲- ۲۵ لاندا آنزیم کنژوگه شماره یک را به همه چاهک ها اضافه نمائید.

۳- پلیت را به مدت ۱۰ ثانیه تکان دهید تا آنزیم کنژوگه کاملاً با نمونه ها و استاندارد ها مخلوط شود.

۴- پلیت را برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه نمائید و سپس ۲۵ آنزیم کنژوگه ۲ را به آن اضافه کرده و پلیت را برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه نمائید.

۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و با چند ضربه ملایم نم چاهک ها را بگیرید.

۶- ۱۰۰ لاندا سوپسترا به همه چاهک ها اضافه کنید.

۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در جای تاریک انکوبه نمائید.

۸- به هر کدام از چاهک ها ۱۰۰ لاندا محلول Stop اضافه نمائید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید.

$$\text{Cut off value} = 0.2 + \text{Mean Negative Control Absorbance}$$

نحوه گزارش جواب :

جواب آزمایشات به صورت Positive و Negative گزارش می شوند.

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از کنترل های موجود در کیت استفاده نمائید.

نکته: در صورت مثبت بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

HIV (پیشتازط)

جمع آوری نمونه :

در این آزمایش هم از سرم و هم از پلاسمای تهیه شده با EDTA و هپارین می توان استفاده کرد سرم و یا پلاسما باید سریع جدا شده و در ۸-۲°C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می باشد اگر بخواهید مدت

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۳۳

طولانی‌تری سرم را نگهداری کنید باید آن را در ۲۰ °C- فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- Microtiterwells (چاهک‌ها)

۲- Positive Control

۳- Negative Control

۴- Wash Buffer (محلول شستشو)

۵- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۶- Substrate Solution

۷- Stop Solution

لوازم موردنیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

آماده‌سازی محللول‌ها :

آماده‌سازی محللول شستشو :

محللول شستشوی غلیظ را به نسبت ۲۰x با آب مقطر رقیق نمائید.

مراحل انجام آزمایش :

۱- ۱۰۰ لاندا از هر کدام از کنترل‌های مثبت و منفی در چاهک‌ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از سرم بیماران در چاهک‌ها بریزید.

۳- ۳۰ ثانیه پلیت راتکان دهید.

۴- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

۵- محتویات داخل پلیت راتخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محللول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و باچند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.

۶- ۱۰۰ لاندا آنزیم کنژوگه به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.

۷- پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ انکوبه نمائید

۸- محتویات داخل پلیت راتخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محللول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و باچند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.

به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ لاندا محللول Stop اضافه نمائید.

۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید.

Cut off value = ۰,۲ + Mean Negative Control Absorbance

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲

نحوه گزارش جواب : جواب آزمایشات به صورت Positive و Negative گزارش می شوند.

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از کنترل های موجود در کیت استفاده نمائید.

نکته: در صورت مثبت بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

HCV (پیش‌تازطب)

جمع آوری نمونه :

در این آزمایش هم از سرم و هم از پلاسما تهیه شده با EDTA و هیپارین می توان استفاده کرد سرم و یا پلاسما باید سریع جدا شده و در $4-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می باشد اگر بخواهید مدت طولانی تری سرم را نگهداری کنید باید آن را در 20°C - فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- Microtiter wells (چاهک ها)

۲- Positive Control

۳- Negative Control

۴- Wash Buffer (محلول شستشو)

۵- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگه)

۶- Substrate Solution

۸- Specimen diluent

۷- Stop Solution

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا ۳- واشر الایزا

آماده سازی محللول ها :

آماده سازی محللول شستشو :

محللول شستشوی غلیظ را به نسبت $50\times$ با آب مقطر رقیق نمائید (مثلاً ۵ ml از محللول را با آب مقطر به حجم ۲۵۰ ml برسانید یعنی ۵ ml از محللول با ۲۴۵ ml آب مقطر).

مراحل انجام آزمایش :

۱- ۱۰۰ لاندا از هر کدام از کنترل های مثبت و منفی در چاهک ها بریزید.

۲- ۱۰۰ لاندا از سرم بیماران در چاهک ها بریزید.

۳- مقدار ۱۰۰ لاندا محللول رقیق کننده سرم در چاهک ها بریزید.

۴- پلیت را برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای 37°C انکوبه نمائید.

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۳۰

- ۵ - محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و با چند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.
- ۶ - ۱۰۰ لاندا آنزیم کنژوگ به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.
- ۷ - پلیت را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمائید.
- ۸ - به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ لاندا محلول Stop اضافه نمائید.
- ۹ - پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید.

$$\text{Cut off value} = 0.2 + \text{Mean Negative Control Absorbance}$$

نحوه گزارش جواب : جواب آزمایشات به صورت Positive و Negative گزارش می شوند.

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از کنترل‌های موجود در کیت استفاده نمائید.

نکته: در صورت مثبت بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.

HBS Ab (پیش‌تاز طب)

جمع‌آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم است که باید سریع جدا شده و در ۸-۲ °C نگهداری شود. میزان پایداری نمونه در این دما فقط ۲ روز می‌باشد اگر بخواهید مدت طولانی‌تری سرم را نگهداری کنید باید آن را در ۲۰ °C- فریز نمائید در این صورت نمونه تا یک ماه قابل نگهداری می‌باشد.

مواد موجود در کیت :

۱- Microtiter wells (چاهک‌ها)

۲- استاندارد ۶ ویال با غلظت‌های مختلف ۱۶۰ ۸۰ ۴۰ ۲۰ ۰

۳- Wash Buffer (محلول شستشو)

۴- Enzyme Conjugate (آنزیم کنژوگ)

۵- Substrate Solution

۶- Stop Solution

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- الایزا

۳- واشر الایزا

آماده‌سازی محلول‌ها :

آماده‌سازی محلول شستشو :

محلول شستشوی غلیظ را به نسبت ۵۰x با آب مقطر رقیق نمائید (مثلاً ۵ ml از محلول را با آب مقطر به حجم ml۲۵۰ برسانید یعنی ml۵ از محلول با ml ۲۴۵ آب مقطر) .

مراحل انجام آزمایش :

- ۱- ۵۰ لاندا از هر کدام از استانداردها و نمونه‌های بیماران در چاهک‌ها بریزید.
 - ۲- ۵۰- لاندا آنزیم کنژوگه به همه چاهک‌ها اضافه نمائید.
 - ۳- پلیت را به مدت ۱۰ ثانیه تکان دهید تا آنزیم کنژوگه کاملاً با نمونه‌ها و استانداردها مخلوط شود.
 - ۴- پلیت را برای مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه نمائید.
 - ۵- محتویات داخل پلیت را تخلیه کرده سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق شده رابه همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نمائید. عمل فوق باید ۵ مرتبه انجام پذیرد. پس از هر بار خالی کردن چاهک‌ها پلیت را بر روی یک کاغذ صافی برگردانید و با چند ضربه ملایم نم چاهک‌ها را بگیرید.
 - ۶- ۵۰- لاندا سوپسترای A و ۵۰ لاندا سوپسترای B به همه چاهک‌ها اضافه کنید (ظروف حاوی سوپسترا به صورت قطره چکان هستند بنابراین به جای ۵۰ لاندا می‌توانیم از هر کدام یک قطره بریزیم) .
 - ۷- پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه نمائید.
 - ۸- به هر کدام از چاهک‌ها ۵۰ لاندا محلول Stop اضافه نمائید.
 - ۹- پلیت را در طول موج ۴۵۰ nm (با طول موج رفرانس ۶۲۰nm) بخوانید.
- مقادیر نرمال :

Negative < ۴ Equivocal = ۴ - ۱۰ Positive > ۱۰

نکته: در صورت خارج از رنج بودن جواب، آزمایش را تکرار نمائید.
منابع وامکانات: دستگاه الایزایدر، شیکر الایزایدر، پرینتر، انواع کیت، انواع سمپلر، دیس پنسر، دستگاه مینی وایداس کارکنان مرتبط: مسئول فنی آزمایشگاه، کلیه پرسنل آزمایشگاه

امکانات و ملزومات و منابع :		
منابع ومراجع: بروشور کیت ها	صاحبان فرایند: مسئول فنی آزمایشگاه ،کارکنان آزمایشگاه -مسئول فنی بیمارستان	
	ذینفعان :	
ابلاغ کننده : دکتر ثمانه میرزاحسینی سمت : رئیس بیمارستان	تایید کننده :دکتر امیرحسین محمودی سمت : مدیر بیمارستان	تهیه کننده : دکتر منصوره توکلی (مسئول فنی آزمایشگاه) امیرهانی کریمی پور (سوپروایزر آزمایشگاه)