Immunoglobulin G Immunoturbidimetry

اطلاعات سفارش:

14010310507 (H917) 1 x 40 ml R1+1 x 10 ml R2

کاربرد:

معرف جهت اندازه گیری کمی ایمونوگلوبولین‌های IgG در سرم و پلاسما با استفاده از دستگاه بیوشیمی ، فتومتر ، اسپکتروفتومتر

مقدمه:

ایزوتایپ‌های متفاوت ایمونوگلوبولین‌های انسانی (IgG، IgA، IgM، IgE، IgD) گلیکوپروتئین‌های ساختاری و عملکردی را شامل می‌شوند.

IgG انسان دارای وزن مولکولی حدود ۱۵۰ کیلو دالتون می‌باشد و از دو زنجیره سبک یکسان و دو زنجیره سنگین یکسان تشکیل شده که توسط پیوندهای دی سولفیدی و به شکل Y به یکدیگر اتصال یافته‌اند. IgG سرمی توسط سلول‌های پلاسما (B-cells) تولید می‌شود و حدود ۷۵٪ از ایمونوگلوبولین‌های محلول را شامل می‌شود. مهمترین نقش IgG سرم، اتصال به آنتی‌ژن‌ها، شروع فعال‌سازی کمپلمان و فعالسازی کاتابولیسم آنتی ژن‌ها می‌باشد. کاهش غلظت IgG سرم در سندرم‌های نقص سیستم ایمنی اولیه و ثانویه رخ می‌دهد و همچنین افزایش از دست دادن پروتئین به دلیل سندرم نفروتیک ممکن است منجر به کاهش غلظت IgG شود. افزایش بالای یک کلاس از ایمونوگلوبین‌ها به دلیل مولتیپل میلوما، ممکن است باعث کاهش ایمونوگلوبولین‌های کلاس‌های دیگر از جمله IgG شود. افزایش غلظت IgG در عفونت‌های شدید و بیماری‌های خودایمن نیز دیده می‌شود. همچنین اشکال مختلف میلوما مقادیر زیادی از IgG مونوکلونال و پلی‌کلونال را مانند دیگر کلاس‌های ایمونوگلوبولین‌ها تولید می‌کند. تعیین مقدار کمی IgG سرم برای تشخیص افتراقی این بیماری‌ها مهم است.

روش:

ایمونوتوربیدیمتریک

اساس آزمایش:

کمپلکس‌های ایمنی تشکیل شده در محلول، نور را متناسب با اندازه، شکل و غلظت این کمپلکس‌ها پراکنده می‌کنند. کاهش نور تابشی به دلیل بازتاب، جذب یا پراکندگی توسط کدورت سنج‌ها اندازه‌گیری می‌شود. در این روش، کاهش شدت نور منتقل شده (افزایش جذب) از طریق ذرات معلق در محلول، نتیجه کمپلکس های تشکیل شده در طی واکنش آنتی ژن-آنتی بادی است.

محتویات و مقادیر معرف:

Final concentration of reactive ingredients:

Tris buffer pH 7.2	48mmol/L
Polyethylene glycol 6000	3.1%
Anti-IgG antiserum	Dependent on titre

همچنین حاوی مواد نگهدارنده می‌باشد.

شرایط نگهداری و پایداری محلول‌ها:

محلول معرف بصورت آماده مصرف می‌باشد.

محلول‌ها باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شوند و تا تاریخ مندرج بر روی ویال‌ها قابل مصرف می‌باشند.

توجه: از فریز نمودن و قرار دادن محلول‌ها در مجاورت نور خودداری شود.

هشدارها:

برای پایدار نمودن محلول‌ها از سدیم آزاید استفاده شده است .لذا از بلعیدن و تماس مستقیم محلول‌ها با دهان و دستو چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول‌ها رعایت گردد.

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد:

برطبق قوانین تدوین شده وزارت بهداشت عمل شود.

لوازم و مواد موردنیاز:

تجهیزات معمول آزمایشگاه پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

کالیبراتور و کنترل‌ها:

جهت کالیبر و کنترل، می‌توانید از کالیبراتور و کنترل پروتئین شرکت آتیه آنالیز تشخیص استفاده نمایید.

Duocal specific protein	1 ml	14030220505
Duotrol specific protein	1 ml	14020220505

روش آماده‌سازی کالیبراتور:

- ۲۰۰ µL Duocal Protein رقیق نشده را در جایگاه ۶ قرار دهید.
- ۲۰۰ µL Duocal Protein رقیق نشده را به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی رقیق نمایید و در جایگاه ۵ قرار دهید.
- ۲۰۰ µL Duocal Protein رقیق شده را از جایگاه ۵ برداشته و به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی رقیق نمایید و در جایگاه ۴ قرار دهید.
- ۲۰۰ µL Duocal Protein رقیق شده را از جایگاه ۴ برداشته و به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی رقیق نمایید و در جایگاه ۳ قرار دهید.
- ۲۰۰ µL Duocal Protein رقیق شده را از جایگاه ۳ برداشته و به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی رقیق نمایید و در جایگاه ۲ قرار دهید.
- در جایگاه شماره ۱ فقط آب مقطر قرار دهید.

با یک بار آماده‌سازی کالیبراتور به طریق فوق می‌توانید کیت‌های C3، C4، IgG، IgA، IgM، Transferrin و Ceruloplasmin را همزمان کالیبر نمایید. (پایداری کالیبراتور پس از رقت سازی فوق ۲ ساعت می‌باشد.)

نمونه‌ها:

سرم، پلاسما همراه با EDTA یا هپارین

از آلوده شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

شرایط نگهداری و پایداری نمونه‌ها:

پایداری IgG در سرم یا پلاسما:

در دمای ۲ – ۸ درجه سانتیگراد	۳ روز
در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد	۸ روز

در صورت آلوده شدن نمونه‌ها، آن‌ها را دور بریزید.

استفاده از نمونه‌ای که بیش از یکبار از فریزر خارج شده، توصیه نمی‌شود.

روش دستگاهی:

جهت دریافت پارامتر دستگاه‌های مختلف، با بخش فنی شرکت آتیه آنالیز تشخیص تماس بگیرید.

روش انجام آزمایش به صورت دستی:

طول موج: ۳۴۰ تا ۴۵۰ نانومتر

قطر کووت: یک سانتیمتر

دما: ۳۷درجه سانتیگراد

اندازه‌گیری: فتومتر با بلانک هوا روی صفر تنظیم شود.

	بلانک	نمونه یا کالیبراتور
آب مقطر	۶ میکرولیتر	-
نمونه یا استاندارد	-	۶ میکرولیتر
محلول شماره ۱	۸۰۰ میکرولیتر	۸۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده، جذب نوری اولیه کالیبراتور و نمونه ها را اندازه‌گیری نمایید و سپس محلول شماره دو را به ترتیب زیر اضافه نمایید.		
محلول شماره ۲	۲۰۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر
پس از ۲ دقیقه انکوباسیون مجدد در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جذب نوری ثانویه را در برابر شاهد اندازه‌گیری نمایید.		

برای محاسبه تغییرات جذب نوری (ΔA)، جذب نوری اندازه‌گیری شده در مرحله اول برای هر کووت را از جذب نوری اندازه‌گیری شده در مرحله دوم کسر نمایید. سپس تغییرات جذب نوری بدست آمده از کالیبراتورهای مختلف را در جدول لگاریتمی وارد نموده و براساس منحنی بدست آمده غلظت کنترل و نمونه ها را تعیین نمائید.

دامنه مرجع:

Serum & Plasma	700 - 1600 mg/dL

هر آزمایشگاه باید بررسی کند که آیا محدوده مرجع بر جمعیت بیمار منطقه خود منطبق می‌باشد یا خیر و در صورت لزوم مرجع خود را تعیین کند

محدوده اندازه‌گیری:

این کیت جهت اندازه‌گیری IgG در محدوده ۱۷۵ تا ۳۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر طراحی شده و در مواردی که مقداری IgG بیش از ۳۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

عوامل مداخله‌گر:

بیلی‌روبین تا غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و هموگلوبین تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و تری‌گلیسرید تا غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و RF تا غلظت ۱۷۰۰ واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی‌شوند.

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد) :

Intra-assay precision n=20	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Sample 1	1181	26.92	2.28
Sample 2	1965	36.52	1.85
Sample 3	2235	38.95	1.74

Intra-assay precision n=40	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Sample 1	1186	25.84	2.17
Sample 2	1962	34.25	1.74
Sample 3	2231	37.45	1.68

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت IgG بایومد (y) با یکی از متداولترین کیت‌های IgG (x) بر روی ۵۱ نمونه بیمار نتیجه زیر بدست آمد.

$y = 1.10\ (x) - 52.9$ mg/dL ; $R^2 = 0.997$

References:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft; 1998. p. 667-78.

2. Johnson AM, Rohlfs EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1999. p. 507-12.

3. Bartl R, Hoechtlen-Vollmar W, Thomas L. Monoclonal immunoglobulins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 74258.

4. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

5. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:517-20.

LOT	Lot Number
REF	Catalogue Number
	Storage Temperature
IVD	For In Vitro Diagnostic Use only
	Expiry Date (Year/Month)
	Warning, read Enclosed Documents
	Instruction For Use
	Manufactured By