

- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل‌های های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر اتوآنالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

600 nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور

نسبت نمونه/استاندارد/پلانک : معرف

نمونه	استاندارد	پلانک	معرف
280µL	280µL	280µL	معرف ۱ (R1)
70µL	70µL	70µL	معرف ۲ (R2)
-	-	5µL	آب مقطر
5µL	-	-	نمونه
-	5µL	-	استاندارد

ابتدا معرف ۱ به نمونه اضافه شده، مخلوط شده و در دمای 37 °C و به مدت ۵ دقیقه انکوبه شود. سپس معرف ۲ اضافه شده جذب ۵ دقیقه بعد اندازه گیری شود.

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

-توصیه می شود منحنی کالیبراسیون با استفاده از ۵ نقطه ترسیم شود.

محاسبات

تغییرات جذب نور نمونه ثبت شده و با توجه به منحنی کالیبراسیون رسم شده، غلظت RF محاسبه می شود.

مقادیر مرجع

Serum	20(IU/ml)
-------	-----------

-هرآزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج RF باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

برای بررسی نمونه ایی با غلظت بالا (175 IU/ml) در سطوح غلظتی متفاوت رقیق شد. هر نمونه سه بار اندازه گیری و محدوده خطی (4-120 IU/ml) تعیین شد.

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Rheumatoid factor (RF) موجود در سرم به روش Turbidolates استفاده می شود.

اهمیت بالینی

فاکتور روماتوئید (RF) اتوانتی بادی است که بیشترین تاثیر را در آرتریت روماتوئید دارد. RF اغلب در بیماران مشکوک به هر نوع آرتریت اندازه گیری می شود. مقادیر بالای فاکتور روماتوئید در انواع بیماری های روماتوئید رخ می دهد

اساس اندازه گیری

RF موجود در نمونه به آنتی بادی های جذب شده به ذرات لاتکس متصل می شود. که منجر به آگلوتیناسیون ذرات می شود و باعث افزایش کدورت می شود. میزان این کدورت متناسب با غلظت RF است و با فوتومتر اندازه گیری می شود.

معرف ها

R1	Good Buffer	80 mmol/l
R2	Good Buffer latex particles coated with human gammaglobulin	50 mmol/l 40 mmol/l

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

-در دمای C 2-8 نگهداری شود.
 -از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قی د شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم
- از نمونه همولیز شده استفاده نکنید.

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2

ضریب همبستگی (R) ۰.۹۹ و انحراف نسبی بین غلظت اندازه گیری شده و مقدار تخمینی کمتر از ۱۰٪ بود. نمونه های با غلظت بالاتر باید رقیق شوند.

منابع

1. Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991
2. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, DC 5th ed. 2000
3. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
4. Friedrich Lottspeich, Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

۲- حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 4 IU/ml

۳- دقت (Precision)

- اینترا اسی - تکرار پذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (IU/ml)	نمونه
1.81	0.14	7.79	Level 1
1.65	0.4	24.37	Level 2

- اینترا اسی - دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (IU/ml)	نمونه
1.27	0.10	7.69	Level 1
2.30	0.56	24.31	Level 2

۴- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.99

$$Y = 1.0372x - 0.5092$$

۵- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر در مقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 20mg/dl
Triglycerides	≤ 100mg/dl
Hemoglobin	≤ 100 mg/dl

۶- up to 800 IU/ml RF : Prozone effect

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.