ریتون بیو آنالیز

کیت بروسلا کومبس ژل

تشخیص توتال آنتی بادی علیه باکتری بروسلا در سرم انسانی

Ref NO: R120

مورد مصرف:

این محصول به منظور تعیین آنتی بادی های علیه باکتری بروسلا در سرم انسانی در زمان کوتاه تولید شده است.

معرفی:

بروسلوز نوعی بیماری اندمیک است که توسط باکتری بروسلا در انسان و حیوانات مشاهده می شود. منبع اصلی عفونت گاو، گوسفند و بز است و بیماری از حیوانات به انسان قابل انتقال است. مسیر اصلی انتقال، تغذیه از گوشت، شیر و فراورده های لبنی خام و نیمه پخته است.

بیماری در دو شکل حاد و مزمن طبقه بندی می شود. روش های رزبنگال، آگلوتیناسیون لوله ای و ایمونوکپچر از روشهایی هستند که برای تشخیص بیماری به کار گرفته می شوند. در موارد حاد آنتی بادی های IgM و در وضعیت های مزمن آنتی بادی های IgG غالب میباشد. در موارد مزمن ممکن است آگلوتیناسیون با وجود واکنش آنتی ژن- آنتی بادی رخ ندهد که ناشی از وجود آنتی بادی های ناقص میباشد؛ و با آزمایش اگلوتیناسیون مستقیم قابل مشاهده نیست. برای تشخیص انواع آنتی بادیهای ناقص بروسلا میبایست از روش "کومبس آنتی گلوبولین انسانی" استفاده شود. آزمایش بروسلا کومبس ژل در اصل نوعی روش کومبس است.

اساس آزمایش:

کیت بروسلا کومبس ژل ریتون بیو آنالیز، آزمایش آگلوتیناسیون بروسلا در میکرو ستون با زمینه ژل و آنتی گلوبولین انسانی است. نتایج به صورت چشمی قابل ارزیابی هستند. اگر آنتی بادی علیه آنتی ژن های بروسلا در سرم وجود نداشته باشد، آنتی ژن های صورتی بروسلا در کف ستون ته نشین می شوند یا در ستون به حالت معلق باقی میمانند. اگر آنتی بادی علیه آنتی ژن های بروسلا در سرم وجود داشته باشد کمپلکس های آنتی ژن - آنتی بادی به شکل یک دایره صورتی رنگ بر روی ژل قرار می گیرد.

محتوای کیت:

۱- ۱۶ کارت، هر کدام حاوی ۶ ستون (۹۶ آزمایش) که حاوی زمینه ژل و آنتی گلوبولین انسانی هستند.

۲- رقیق کننده: ۱۵ میلی لیتر بافر رقیق کننده سرم.

۳-سوسپانسیون رنگی آنتی ژن بروسلا: ۶ میلی لیتر (سوسپانسیون باکتری کشته شده بروسلا ابورتوس).

۴-کنترل منفی بروسلا: ۲۰۰ میکرو لیتر کنترل منفی محتوی سدیم آزید.

۵-کنترل مثبت بروسلا: ۲۰۰ میکرو لیتر کنترل مثبت بروسلامحتوی سدیم آزید. (تیترکنترل مثبت بر روی ویال مربوطه درج گردیده است). این کنترل از نمونه دامی میباشد؛ لذا مراقبتهای لازم جهت کار با این کنترل به کار گرفته شود.

۶- پلیت خالی یک بار مصرف الایزا با چاهک های U شکل (جهت رقیق سازی نمونه و مخلوط کردن با آنتی ژن) .

سایر موارد مورد نیاز:

- سمپلر ۱۰۰، ۵۰، ۵ میکرولیتر دقیق
- سانتریفیوژ ژل کارت یا باکت مخصوص ژل کارت. (جهت تهیه باکت مخصوص و استفاده از آن با پشتیبانی شرکت تماس حاصل نمایید).

شرایط نگه داری و پایداری :

- کیت باید در ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد بالای صفر نگه داری شود.
- در صورتی که کیت را در ۸-۲ درجه سانتی گراد نگه داری می نمایید و نوار برچسب پلمپ ژل کارت آسیب دیدگی نداشته باشد کیت تا پایان مهلت انقضا پایدار است. **توجه: برای استفاده از ستون های ژل کارت، برچسب آلومینیومی را سوراخ نمایید و از برداشتن کامل برچسب خودداری نمایید**
- در حین مصرف از آلودگی میکروبی معرفها جلوگیری نمایید.
- از معرفها پس از پایان تاریخ انقضا استفاده ننمایید.

مراقبت ها و هشدار ها:

- این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می باشد.
- این کیت برای کاربری حرفه ای طراحی شده است.
- از جابه جایی معرفها در بین شماره سری ساختهای مختلف کیت خودداری شود.
- تمام نمونه ها با منشا انسانی باید به صورت بالقوه عفونی در نظر گرفته شود و توصیه می شود که حتما از دستکش یک بار مصرف استفاده شود.
- تمام محتوای کیت و نمونه ها را باید بالقوه خطرناک، برای سلامت در نظر گرفت. دفع باقی مانده کیت باید مطابق دستورالعمل ایمنی در برابر مواد عفونی انجام شود.

جمع آوری و نگهداری نمونه:

سرم مورد نیاز برای آزمایش باید تحت شرایط مناسب جمع آوری شود (از سرنگ و لوله های یک بار مصرف استفاده نمایید). نمونه های سرم را در ۸-۲ درجه سانتی گراد نگه داری نمایید. در صورتی که از نمونه های سرم ظرف ۷ روز استفاده نشود آن را باید در ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری کرد. از ذوب وانجماد مکرر نمونه ها، خودداری شود. از به کار گیری نمونه سرم های لیپمیک یا حاوی لخته و همولیز، خودداری شود.

تذکر: از پلاسما استفاده نکنید. این عمل می تواند باعث نتیجه مثبت کاذب گردد.

آماده سازی کیت:

- محتویات کیت را پیش از آزمایش به دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد) برسانید.

روش انجام آزمایش(غربالگری):

۱- ابتدا نمونه ها، کنترل ها، محلول ها، ستون ها و پلیت را به دمای اتاق برسانید (تقریبا ۳۰ دقیقه).

۲- ۹۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده در داخل چاهکهای در نظر گرفته شده برای هر یک از نمونه ها وکنترل ها میریزیم.

۳- ۱۰ میکرولیتر از نمونه سرم و هریک از کنترلها به محلول رقیق کننده اضافه و مخلوط می نماییم (پلیت رابه آرامی تکان دهید).

۴- ۵۰ میکرولیتر از نمونه و کنترل های رقیق شده را، از چاهک ها برداشته و دور می ریزیم.

۵- ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن بروسلا به هر چاهک اضافه و ۳۰ ثانیه پلیت را به آرامی تکان می دهیم.

نکته: (تیتر سرم در این حالت ۱/۲۰ در نظر گرفته میشود). لازم به ذکر است آزمایشگاه میتواند در صورت تمایل از تیترهای پایین تر نیز استفاده کند (مثلا برای رقیق سازی نمونه با رقت ۱/۴۰ میبایست ۹۵میکرولیتر رقیق کننده را با ۵ میکرولیتر نمونه سرم مخلوط کرده ومراحل بعد را طبق روش بالا انجام دهد).

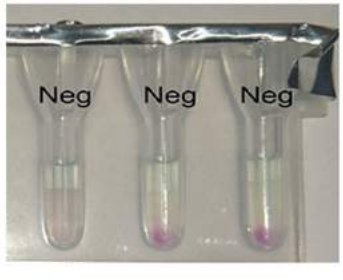
۶- ۵۰ میکرولیتر از مخلوط موجود در هر چاهک را برداشته، به یکی از ستون های ژل مشخص شده برای آن اضافه می نماییم. **(بهتر است ژل کارت مذکور را برای وضوح بیشتر کمپلکس رنگی ،قبل از سانتریفیوژ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قراردهید)**

۷- ژل کارت ها را به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰-۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ می نماییم.

نکته: (قبل از روشن کردن سانتریفیوژ از بالانس بودن آن اطمینان حاصل نمایید و درب سانتریفیوژ را به طور کامل ببندید).

خواندن نتایج:

در موارد مثبت، کمپلکس رنگی آنتی ژن - آنتی بادی در سطح ژل تشکیل میشود و در موارد منفی، آنتی ژن رنگی در پایین ستون و یا به شکل معلق در ژل قابل مشاهده می باشد.

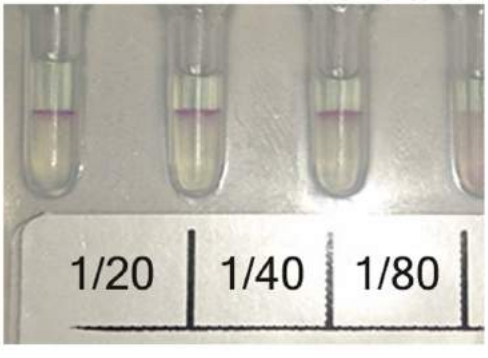


روش تیتراسیون:

- ۹۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده (Diluent) را در چاهک اول پلیت U و در ما بقی چاهک ها ۵۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده میریزیم.
- ۱۰ میکرولیتر سرم در چاهک اول پلیت، اضافه کرده و پلیت را به مدت ۳۰ ثانیه به آرامی تکان میدهیم؛ سپس ۵۰ میکرولیتر از آن را برداشته و به چاهک دوم اضافه و مخلوط می نماییم و برای چاهکهای بعدی نیز به همین روش ادامه می دهیم (رقتهای سریال تهیه می‌کنیم).
- از چاهک آخر ۵۰ میکرولیتر برداشته و دور می ریزیم.
- به تمامی چاهک ها ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن بروسلا اضافه می نماییم و به مدت ۳۰ ثانیه پلیت را به آرامی تکان می دهیم.
- ۵۰ میکرولیتر از رقتهای تهیه شده را به ستون های ژل کارت مشخص شده برای هریک از رقتها اضافه می نماییم.
- ستون ها را به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ می نماییم.

ارزیابی نتایج:

اگر آنتی بادی بروسلا درون سرم وجود نداشته باشد، آنتی ژن صورتی بروسلا در کف ستون ته نشین می شود یا به صورت معلق در طول ستون ژل می ماند. اگر آنتی بادی علیه بروسلا در سرم وجود داشته باشد، آنتی ژن و آنتی بادی به شکل کمپلکس صورتی رنگ بر روی ژل قرار می گیرد. اگر نتیجه آزمایش سرم در تیتر ۱/۱۶۰ یا بالاتر قرائت شود این مقادیر را مثبت در نظر می گیریم. تفسیر نتایج فقط به عهده پزشک معالج میباشد. نمونه هایی که در آزمایش غربالگری مثبت شده اند برای تعیین تیتر باید با روش تیتراسیون آزمایش شوند.



در این روش، با احتساب رقت نمونه با رقیق کننده و انتی ژن، رقت هر ستون به شکل زیر است:

ستون اول **۱/۲۰**، ستون دوم **۱/۴۰**، و ستون سوم مشخص کننده تیتر **۱/۸۰** است.

مقادیر مورد انتظار:

کیت بروسلاکومبس ژل ریتون بیو آنالیز با ۱۰۰ نمونه سرم مورد آزمایش قرار گرفت. داده های به دست آمده از مطالعه فوق نشان داد که سرم هایی که در تیتراسیون، ۱/۱۶۰ یا بالاتر هستند را میتوان مثبت در نظر گرفت. این نتایج درصد بالایی از انطباق با روش ایمونوکپچر را نشان میدهد .

حساسیت و اختصاصیت:

در ۱۰۰ نمونه سرم که باروش ایمونو کپچر مقایسه شده مشخص شد که حساسیت ۹۶٪ و اختصاصیت ۹۷٪ است. در این مطالعه نتایج بین منفی تا تیتر ۱/۲۵۶۰ در سرم نمونه های انسانی مشاهده گردید. همچنین پدیده پروزون تا تیتر ۱/۲۰۴۸۰مشاهده نگردید.

آزمون های دقت:

Intra Assay Precision:

تعداد ۳ نمونه (۲نمونه مثبت و ۱ نمونه منفی) که از قبل در ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری شده اند توسط یک تکنیسین ثابت و در شرایط یکسان هر کدام ۳ مرتبه مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلاف تیتراسیون بیشتر از یک تیتر مشاهده نشد.

Inter Assay Precision:

تعداد ۳ نمونه (۲ نمونه مثبت و ۱ نمونه منفی) که از قبل در ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری شده اند توسط یک تکنیسین دیگر و در روز دیگر مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلاف تیتراسیون بیشتر از یک تیتر مشاهده نشد.

نکات مهم و محدودیت ها:

- درصورت وجود حباب در ستونها، قبل از استفاده ژل کارت ها ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ شود.
- **در صورتی که هرکدام از ستونها تبخیر شده و حجم آن افت چشم گیری دارد از آن ستون استفاده نکنید و مراتب را به پشتیبانی شرکت اطلاع دهید. (شماره پشتیبانی :۶۶۴۸۵۲۹۰-۰۲۱)**

- نمونه مورد استفاده کیت تنها سرم انسان می باشد. از پلاسما یا سایر مایعات بدن استفاده ننمایید.
- برای حصول نتایج درست باید از شرایط گفته شده پیروی نمود. به ویژه دقت بیشتر در انتقال حجم با سمپلر، زمان و دور سانتریفیوژ که بر نتایج آزمایش اثر گذار هستند.
- نتایج آزمایش با کیت بروسلا کومبس ژل تست ریتون بیوآنالیز باید در تطابق با نتایج بالینی و سایر یافته های آزمایشگاهی مورد تفسیر قرار بگیرند.
- تشخیص قطعی بروسلوز با جداسازی باکتری آن صورت می پذیرد.
- این آزمایش نمی تواند به منزله ارزیابی برای تعیین مرحله بیماری باشد.

-در مواردی که ظن بروسلوز وجود دارد و آزمایش با بروسلا کومبس ژل منفی است و علائم بالینی به نفع بروسلوز میباشد توصیه میگردد این آزمایش ۲ هفته بعد تکرار شود و یا از روشهای تایید شده دیگر استفاده شود.

منابع:

۱-میکروب شناسی، دکتر پرویز ادیب فر، چاپ چهارم، ۱۳۷۵

۲-اصول تفسیر آزمایشهای سرولوژی بالینی، دکتر پرویز پاکزاد، چاپ سیزدهم، ۱۳۹۲

3- Mesa et al. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 221-225

4- SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS, Nielsen K., Yu WL. 2010 Jul;31(1):65-89.

5- Mst. Minara Khatun, Characteristics of the immune response during acute brucellosis, J Infect Dev Ctries 2009; 3(5): 392-397.

6- Fernando Padilla Poester, Diagnosis of Brucellosis, The Open Veterinary Science Journal, 2010, 4, 46-60

SYMBOLS:

Consult instruction for use

IVD only for invitro diagnostic use

REF Reference No(Catalog No)

LOT Lot of Manufacturing

Biological risk

Expairation date

Date of manufacture

Do not re-use

Storage Temperature interval

Contains Sufficient for <n> tests

روش غربالگری (قبل از شروع آزمایش محتویات کیت و نمونه ها به دمای اتاق برسد)

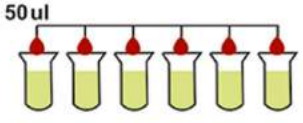
۱- ابتدا نمونه ها، محلول ها، ستون ها و پلیت را به دمای اتاق برسانید (تقریبا ۳۰ دقیقه)

۲- ۹۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده در داخل چاهک های در نظر گرفته شده برای هر یک از نمونه ها و کنترل ها بریزید.

۳- ۱۰ میکرولیتر از نمونه سرم و هر یک از کنترل ها به محلول رقیق کننده اضافه و مخلوط نمایید. (پلیت را به آرامی تکان دهید)

۴- ۵۰ میکرولیتر از نمونه و کنترل های رقیق شده را از چاهک ها برداشته و دور بریزید.

۵- ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن بروسلا به هر چاهک اضافه کرده و ۳۰ ثانیه پلیت را به آرامی تکان دهید.

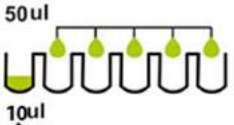


۶ - ۵۰ میکرولیتر از مخلوط بالا در هر چاهک را برداشته و به یک ستون ژل کارت اصافه کنید و ژل کارت ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون کنید.

۷- ژل کارت را به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ کنید و سپس نتایج را بررسی کنید.

روش تیتراسیون (قبل از شروع آزمایش محتویات کیت و نمونه ها به دمای اتاق برسد)

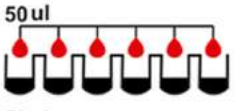
۱- ۹۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده به چاهک اول پلیت اضافه کنید.



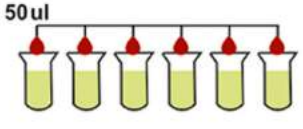
۲- ۵۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده به چاهک های بعدی اضافه کنید.

۳- ۱۰ میکرولیتر سرم به چاهک اول اضافه کنید .

۴- ۵۰ میکرولیتر از مخلوط سرم و رقیق کننده در چاهک اول پلیت را برداشته و به چاهک دوم اضافه کنید و مخلوط نمایید. برای چاهک های بعدی نیز به همین روش ادامه دهید.از چاهک آخر ۵۰ میکرولیتر از مخلوط را دور بریزید.



۵- ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن به همه چاهک های حاوی سرم رقیق شده اضافه کنید و پلیت را به مدت ۳۰ ثانیه تکان دهید.



۶ - ۵۰ میکرولیتر از مخلوط بالا در هر چاهک را برداشته و به یک ستون ژل کارت اضافه کنید و ژل کارت ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون کنید.

۷- ژل کارت را به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ کنید و سپس نتایج را بررسی کنید.

PRODUCER:
Zist Gostaran Koosha Co.LTD
Tell&Fax: +98 21 66485290
Email: info@zistgostaran.ir
www.zistgostaran.ir

شرکت زیست گستران کوشا

دفترمرکزی:تهران ،فرجام شرقی ،بعد ازتقاطع آیت پلاک ۹۲۴ طبقه دوم ،۰۲۱-۶۶۴۸۵۲۹۰
کارخانه: سمنان ، شهرک صنعتی ایوان کی بلوار آزادی ، قطعه یک