

Eurospital DIAGNOSTIC
کیت الایزا جهت اندازه گیری کلپروتکتین در مدفوع
Calprest NG

بروشور اصلی را با جستجوی کد REF درج شده بر روی جعبه کیت در سایت www.eurospital.qarad.eifu.online دریافت نمایید.
جمع آوری نمونه :

نمونه مدفوع تا 4 روز در یخچال قابل نگهداری است.

آماده سازی معرف ها :

Extraction solution

1 قسمت محلول استخراج (50ml) را با 1.5 قسمت (75ml) آب مقطر تازه مخلوط نمایید. محلول استخراج آماده شده تا 90 روز در یخچال پایدار است.

Diluent

1 قسمت از محلول رقیق کننده (20ml) را با 9 قسمت آب مقطر (180ml) مخلوط نمایید. این محلول را ترجیحا متناسب به مقدار نیاز روزانه تهیه نمایید.

Washing solution

محلول شستشو را متناسب با مقدار نیاز روزانه به نسبت 1/20 رقیق نمایید.

آماده سازی نمونه (روش وزنی):

حداقل 80 و حداکثر 120 میلی گرم مدفوع هموزنیزه شده را با استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی در یک لوله (درب دار) قرار داده و 49 برابر، محلول استخراج آماده شده (میکرولیتر) به آن اضافه کنید. (100 mg stool x 49 = 4900 µl Ext.solution)

ترجیحا اپلیکاتور در ادامه مراحل بعنوان هم زن داخل لوله باقی بماند.

لوله را به مدت 30 ثانیه و رتکس کرده و سپس به مدت 30 دقیقه با استفاده از میکسر هماتولوژی مخلوط نمایید.

1ml از محلول هموزنیزه شده را به میکروتیوب منتقل کرده و به مدت 5 دقیقه با قدرت 10000 g در دمای اتاق سانتریفوژ نمایید.

(در صورت عدم دسترسی به میکروسانتریفوژ با قدرت 10000 g، ابتدا لوله اصلی را به مدت 5 دقیقه با سرعت 4000 RPM سانتریفوژ کرده و پس از انتقال 1ml از مایع روئی به لوله جدید ، مجدداً به مدت 5 دقیقه در 4000 RPM سانتریفوژ نمایید.)

مایع روئی استخراج شده، باید بلافاصله در مرحله الایزا مورد استفاده قرار گیرد.

رقیق سازی نمونه :

محلول استخراج شده را در دو مرحله با استفاده از محلول رقیق کننده آماده شده به رقت 1/400 برسانید:

1- 5 µl Extract + 995 µl diluent solution (1/200)

2- 500 µl first dilution + 500 µl diluent solution (1/400)

مراحل الایزا :

1- معرف های موجود در کیت را به دمای اتاق برسانید.

2- به تعداد لازم چاهک انتخاب کنید.

3- مقدار 100 µl کالیبراتور ، کنترل و نمونه های رقیق شده را به چاهک های مربوطه اضافه کنید.

4- روی چاهک ها را با کاور مربوطه پوشانده و پلیت را به مدت 60 دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

5- چاهک ها را 3 بار با (300 µl) محلول شستشوی رقیق شده ، شستشو داده و رطوبت اضافه را با دستمال کاغذی بگیرید.

6- مقدار 100 µl از محلول کونژوگه به همه چاهک ها اضافه کنید.

7- روی چاهک ها را با کاور مربوطه پوشانده و پلیت را به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

8- چاهک ها را 3 بار با (300 µl) محلول شستشوی رقیق شده ، شستشو داده و رطوبت اضافه را با دستمال کاغذی بگیرید.

9- مقدار 100 µl محلول سوبسترا به همه چاهک ها اضافه کنید. سرعت عمل و جلوگیری از تشکیل حباب در این مرحله مهم است.

10- پلیت را به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه کنید.

11- مقدار 100 µl محلول متوقف کننده به همه چاهک ها اضافه کنید.

12- جذب نوری چاهک ها را در 450-630 nm بخوانید.

13- با توجه به نحوه رقیق سازی نمونه ها جهت تبدیل واحد از فرمول زیر استفاده نمایید:

$$1 \text{ ng/ml} \times 20 = 1 \text{ mg/kg} = 1 \mu\text{g/g} \text{ (Calprotectin/Stool)}$$