

www.padyabteb.com

eztest
ELISA Kits

HCG (Rapid)
Fertility ELISA Kits

REF: PT-EHG-204

IVD

◀ مقدمه

HCG هورمونی گلیکوپروتئینی است، که مهمترین وظیفه آن نگهداری جسم زرد است و به نوبه خود تولیدکننده استرادیول و پروژسترون می‌باشد. علاوه بر این HCG در جنین مذکر سلول‌های لیدیک تولید کننده تستوسترون را تحریک کرده، از این طریق به تمایز جنسی کمک می‌کند. HCG که در سرم در مراحل اولیه حاملگی ظاهر شده و غلظت آن تدریجاً افزایش می‌یابد، به طوریکه در سه ماه اول به اوج خود می‌رسد. سپس بصورت پیش رونده تا زمان زایمان کاهش می‌یابد. بنابراین اندازه گیری HCG خصوصاً در سه ماه اول یک اقدام مهم برای پایش حاملگی است. در حقیقت در این مرحله اندازه گیری متوالی HCG برای بررسی و تشخیص موارد چون تهدید به سقط مهم است.

طبق گزارشات مشخص شده است که میزان HCG نسبت به موارد حاملگی‌های تک جنین نرمال بالاتر است. همچنین کاهش مقدار HCG می‌تواند با خطر سقط جنین یا حاملگی خارج رحمی مرتبط می‌باشد. اندازه گیری این هورمون ارزش زیادی در تشخیص بارداری و نارسایی‌های احتمالی در اوایل دوران بارداری دارد. در بسیاری از آزمایشات ایمنولوژیک از آنتی بادی اختصاصی بر علیه زیر واحد بتای HCG استفاده می‌شود. که روشی بسیار حساس و اختصاصی برای تشخیص زود هنگام حاملگی در مواقع عقب افتادگی زمان قاعدگی است.

◀ اساس روش اندازه گیری

اساس این کیت به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی بادی‌های مونوکلونال می‌باشد.

در این سیستم از یک آنتی بادی مونوکلونال Anti-HCG جهت تثبیت بر روی فاز جامد و یک آنتی بادی Anti-HCG جهت کوئز و گاسیون با آنزیم (HRP) مورد استفاده قرار گرفته است.

پس از اضافه شدن نمونه سرم بیماران مولکول HCG با آنتی بادی‌های مونوکلونال واکنش داده و بین آنتی بادی متصل به فاز جامد و آنتی بادی کوئز شده با آنزیم ساندویچ می‌گردد.

پس از گذشت زمان انکوباسیون در دمای اتاق و شستشو چاهک‌ها توسط محلول شستشو دهنده و اضافه کردن محلول سوبسترا و محلول رنگزا و انکوباسیون به مدت ۵ دقیقه رنگ آبی ظاهر می‌گردد. با اضافه کردن محلول متوقف کننده رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود. شدت رنگ در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری می‌گردد.

شدت رنگ رابطه مستقیم با غلظت HCG در نمونه دارد.

◀ محتویات کیت

ردیف	نام محصول	حجم/ تعداد
1	پلیت پوشانده شده با آنتی بادی مونوکلونال Anti-HCG (Anti HCG Coated plate)	1X96 test
2	محلول آنزیم کوئز و گاماده مصرف (Enzyme conjugate)	2X12 ml
3	استاندارد در غلظت 0.0 IU/L (Cal hCG 0.0 IU/L)	1X5 ml
	استاندارد در غلظت 20 IU/L (Cal hCG 20 IU/L)	1X0.5 ml
	استاندارد در غلظت 100 IU/L (Cal hCG 100 IU/L)	1X0.5 ml
	استاندارد در غلظت 250 IU/L (Cal hCG 250 IU/L)	1X0.5 ml
	استاندارد در غلظت 500 IU/L (Cal hCG 500 IU/L)	1X0.5 ml
4	یافر شستشوی غلیظ 20X (Wash Buffer)	1X30ml
	محلول سوبسترا - رنگزا آماده مصرف (Chrom Substrate)	1X11ml
6	محلول متوقف کننده (اسیدکلریدریک یک نرمال) (Stop Solution)	1X6ml
7	سرم کنترل به همراه نگهدارنده (Control Serum)	1X0.5ml
8	برچسب مخصوص پلیت	۱ عدد

+ محلول شستشو، رنگزا و متوقف کننده در همه کیت‌ها مشترک می‌باشند.

+ استانداردها در بافر حاوی نگهدارنده هستند که در مقابل استاندارد 3rd IS WHO 537/75 کالیبره شده‌اند.

◀ مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی‌باشند

1- سمپلرهای ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتری

2- آب مقطر

3- دستگاه الیزا ریدر دارای فیلتر ۴۵۰ نانومتری و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتری به عنوان فیلتر رفرنس

4- کاغذ جاذب رطوبت

◀ جمع آوری و آماده سازی نمونه

پس از جداسازی سرم از نمونه خون بیمار، نمونه را می‌توان به مدت ۴۸ ساعت در درمای 8°C - 2°C نگهداری نمود. جهت نگهداری طولانی‌تر، نمونه‌ها باید در دمای 20°C - نگهداری شوند. نمونه‌های ذوب شده باید قبل از آزمایش مخلوط شوند. بهتر است ترجیحاً از نمونه‌های با کدورت بالا، همولیز و لیپمیک استفاده نشود. در ضمن باید از فریز و ذوب مکرر نمونه‌ها (Freeze-Thaw) اجتناب گردد.

◀ نکات قابل توجه

1- کیت فقط جهت استفاده در آزمایشگاه تشخیصی کاربرد دارد.

2- استفاده از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه جهت دقت و صحت بیشتر.

3- شستشو چاهک‌ها به صورت کامل جهت نتیجه بهتر.

- بررسی چاهک‌ها از نظر وجود حباب.
- خارج کردن حباب از چاهک‌ها با زدن ضربه آهسته به پلیت.

4- عدم ترکیب اجزاء کیت با سری ساخت متفاوت.

5- جلوگیری از تعویض درب معرف‌ها.

6- جلوگیری از تماس معرف به ویژه معرف حاوی اسیدکلریدریک با پوست (در صورت تماس با آب کافی شستشو داده شود).

7- از استعمال دخانیات، خوردن و آشامیدن اجتناب شود.

8- از پیپت کردن مواد با دهان پرهیز شود.

9- از دستکش و کلاه مناسب استفاده شود.

+ جهت ساخت برخی از اجزای این کیت از سرم انسانی که از نظر HCV، HbsAg، HIV منفی می‌باشد، استفاده شده است.

◀ نگهداری کیت

1- کیت در یخچال در دمای 8°C - 2°C نگهداری شود.

2- میکروپلیت‌ها باید در کیسه در بسته به همراه نمگیر نگهداری شود.

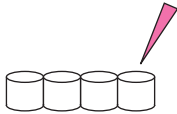
3- مدت زمان پایداری کیت تا پایان تاریخ انقضا (یکسال از زمان تولید) نوشته شده بر روی برچسب کیت می‌باشد.

4- کیت باز شده حداقل به مدت ۲ ماه در دمای 8°C - 2°C پایدار خواهد بود.

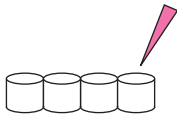
5- محلول شستشوی رقیق شده به نسبت ۱ به ۲۰ به مدت یک هفته در دمای 8°C - 2°C قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

◀ روش انجام آزمایش

- 1- انتخاب تعداد چاهک‌های کوت شده برای استانداردها، کنترل و نمونه‌های بیمار بصورت دوتایی و قرار دادن مابقی چاهک‌ها در کیسه مخصوص به همراه نمگیر و بستن درب آن.
- 2- ۲۰ μl استانداردها، کنترل و نمونه‌ها به چاهک‌ها اضافه نمایید.



- 3- ۲۰۰ μl آنزیم کوئز و گه HRP به تمام چاهک‌ها اضافه نمایید.



- 4- پلیت را به مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان دهید و سپس درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
- 5- محتویات چاهک‌ها را خالی کنید و چاهک‌ها را ۵ بار با ۳۵۰ میکرولیتر بافر شستشوی آماده شستشو دهید. سپس چاهک‌ها را وارونه کنید و همراه با تکان دادن خالی کنید و در انتهای شستشو با ضربات ملایم بر روی کاغذ جذب تمامی مایع موجود در چاهک‌ها را تخلیه نمایید.

◀ آماده سازی معرفها

- 1- همه معرف‌ها باید قبل از استفاده به دمای اتاق (۲۵-۱۸ درجه سانتی‌گراد) برسند.
- 2- تهیه محلول شستشو: برای تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، یک حجم از بافر شستشو غلیظ (20X) را با ۱۹ حجم آب مقطر رقیق نمایید.

◀ نکته‌های مهم

- 1- توصیه می‌شود که بیشتر از ۳۲ چاهک در هر ران کاری استفاده نشود. اگر پلیت به صورت دستی انجام می‌گیرد، پلیت کردن همه استانداردها، نمونه‌ها، کنترل‌ها باید در ۵ دقیقه تمام شود. برای پلیت کردن کل پلیت ۹۶ تستی باید از دستگاه اتوماتیک استفاده شود.
- 2- فرایند شستشو خیلی مهم است. شستشوی ناکافی باعث کاهش دقت و افزایش کاذب جذب می‌شود.
- 3- در مواردی که مقدار hCG نمونه بیش از 1000 IU/ml باشد، نمونه را با استاندارد صفر رقیق و سپس آزمایش را تکرار کنید.

محاسبه نتایج

1- با استفاده از میانگین جذب نوری استاندارد‌ها (محور Y) و غلظت مشخص آنها (محور X) بر روی کاغذ میلی متری، منحنی استاندارد‌ی رسم کنید.

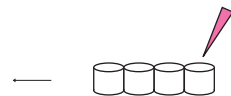
2- میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور Y جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور X وارد کنید تا نقطه تلاقی که نشان دهنده غلظت نمونه است، بدست آید.



6- ۱۰۰ μl از سوپسترای آماده مصرف به تمام چاهکها اضافه کنید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه کنید.



۵ دقیقه انکوبه در دمای اتاق ۲۵ °C

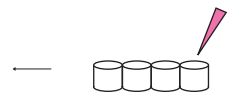


۱۰۰ μl محلول سوپسترای (TMB)

7- ۵۰ μl از محلول متوقف کننده به همه چاهکها اضافه کنید. سپس جذب نوری هر چاهک را در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر قرائت کنید (در صورت امکان از طول موج ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید). سنجش جذب نوری باید حداکثر تا ۱۵ دقیقه پس از انجام آزمایش انجام شود.



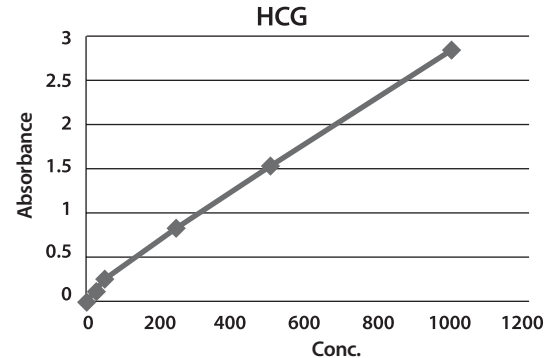
ELISA READER



۵۰ میکرولیتر محلول STOP به تمام چاهکها

راهنمای محاسبه <

مقادیر جذب نوری ارائه شده در جدول ذیل تنها به عنوان راهنمایی آورده شده است و هر آزمایشگاهی باید برای هر بار آزمایش یک منحنی استاندارد جدید بدست آورد.



جذب	مقدار استاندارد (IU/L)	ردیف
۰/۰۲	۰	۱
۰/۱۲	۲۰	۲
۰/۳۳	۱۰۰	۳
۰/۸۲	۲۵۰	۴
۱/۵۴	۵۰۰	۵
۲/۸۵	۱۰۰۰	۶

مقادیر طبیعی <

هر آزمایشگاهی لازم است تا بر اساس بافت جمعیتی، محدوده طبیعی مقادیر این هورمون را بدست آورد. مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمل که توسط آزمایشات مکرر به روش الایزا بدست آمده است به قرار زیر می باشد:

محدوده طبیعی: IU/L ۱۰ - ۰/۵

محدوده مشکوک: IU/L ۲۵ - ۱۰

چنانچه فردی در این محدوده مشکوک باشد، لازم است یک هفته بعد مجدداً خونگیری و آزمایش مجدد به عمل آید. همچنین در نمونه‌هایی که در Boarder line قرار دارند، آزمایش مجدد حتماً تکرار شود.

در افراد باردار مقادیر در دوران مختلف (برحسب IU/L) بشرح ذیل است:

۲۵-۳۵	هفته اول
۳۵-۱۰۰	هفته دوم
۱۰۰-۱۰۰۰	هفته سوم
۱۰۰۰-۱۰۰۰۰	هفته چهارم
۳۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰	ماه دوم و سوم
۱۰۰۰۰-۳۰۰۰۰	سه ماه دوم
۵۰۰۰-۱۵۰۰۰	سه ماه سوم

خصوصیات کیت <

1- حساسیت آنالیتیکال (حد تشخیص):

برای تعیین حد تشخیص ۲۰ مرتبه استاندارد صفر آزمایش شد.

درصد تداخل (%)	غلظت	نوع ماده
۰/۰۵	۵۰۰ mlu/ml	FSH
۰/۳۷	۵۰۰ mlu/ml	LH
۰/۱۸	۵۰۰ µlu/ml	TSH

4- خطی بودن:

سه نمونه مختلف سرمی با استاندارد صفر به نسبت های ۱:۴ ، ۱:۲ و ۱:۸ رقیق شدند. سپس غلظت hCG در آنها با استفاده از کیت محاسبه شد که نتایج ذیل بدست آمد.

Recovery%			غلظت اولیه (IU/L)	نمونه سرمی
۱:۸	۱:۴	۱:۲		
۱۰۷	۹۷	۱۰۵	۱۸۵	۱
۱۰۴	۱۰۲	۹۸	۴۲۳	۲
۱۰۳	۱۰۱	۱۰۳	۸۹۱	۳

5- اثر هوک:

در این کیت، در روش ۱، اثر هوک تا غلظت IU/L ۱۰۰,۰۰۰ دیده نشد. در روش ۲، اثر هوک تا غلظت IU/L ۱,۰۰۰,۰۰۰ ظاهر نمی‌شود.

+ References

1. cole LA (2009). New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin.
2. Gregory JJ, Finay JL. Alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin: their clinical significance as tumor markers.
3. Heormann R, Spoett G, Moncayo R, Mann K. Evidence for the presence of human pituitary J. clin. Endocrinol.
4. Gever, John. FDA Yanks HCG Weight Loss Agents from Market.
5. HCG Diet products Are Illegal
6. FDA, FTC act to remove homeopathic, HCG Weight loss products from the market.
7. PDB : 1 HRP ; Laphorn AJ, Harris DC, Littlejohn A, Lustbader JW, Canfield RE, Machin KJ, Morgan FJ. Crystal structure of human chorionic gonadotropin.

حد تشخیص از ۲ انحراف معیار (SD) بالاتر از میانگین جذب در غلظت صفر بدست آمد. حد تشخیص برای این کیت IU/L ۲ بدست آمد.

2- دقت:

برای محاسبه میزان دقت در یک روز (درون سنجی) و روزهای مختلف، (میان سنجی) آزمایش بر روی ۳ نمونه سرم ۲۰ بار تکرار شد که ضریب تغییرات به شرح ذیل است.

دقت درون سنجی				
نمونه سرم	دفعات تکرار	میانگین (IU/L)	انحراف معیار	ضریب تغییرات (%CV)
۱	۲۰	۶/۴۹	۰/۷۸	۱۲
۲	۲۰	۲۹/۰۲	۲	۶/۹
۳	۲۰	۲۸۲/۶	۱۶/۶۸	۵/۹

دقت میان سنجی				
نمونه سرم	دفعات تکرار	میانگین (IU/L)	انحراف معیار	ضریب تغییرات (%CV)
۱	۲۰	۶/۸۴	۰/۷۸	۱۱/۵
۲	۲۰	۲۶/۸۴	۲/۷۹	۱۰/۴
۳	۲۰	۲۸۲	۲۴/۰۵	۸/۵

3- ویژگی:

آنتی بادی‌های مونوکلونال مورد استفاده در این کیت الایزا اختصاصی hCG انسانی می‌باشند. هیچگونه تداخلی با LH، FSH و TSH انسانی در غلظت‌های طبیعی دیده نشده است.

پاره‌ای نکات علمی در خصوص رفع مشکلات احتمالی در کیت‌های الایزا :

<ul style="list-style-type: none"> • تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید. • طول موج دستگاه را دوباره چک کنید. 	<p>طول موج خوانش نامناسب (۴۰۵ نانومتر بجای ۴۵۰ نانومتر)</p>	عدم تولید رنگ در چاهک‌ها
<p>تکرار تست با مواد همان کیت</p>	<p>استفاده از مواد سایر کیت‌ها</p>	
<p>تکرار تست</p>	<p>انجام نشدن مرحله‌ای از تست</p>	صحیح نبودن نمودار
<p>تکرار تست با محلول کوثر وگه جدید</p>	<p>آلودگی محلول کوثر وگه با سدیم آزاید</p>	
<p>از سری استاندارد جدید استفاده کنید</p>	<p>آلودگی استانداردها</p>	

راه حل	علت مشکل	پایین بودن OD استاندارد‌ها و نمونه‌ها
تکرار تست با کوثر وگه جدید	افت و یا آلودگی کوثر وگه	
<ul style="list-style-type: none"> • دمای آزمایشگاه و تایمر را چک کرده و تست را تکرار کنید • قبل از شروع آزمایش کیت و نمونه بیماران به دمای اتاق برسد. 	<p>پایین بودن دما و یا کوتاه بودن زمان انکوباسیون، به دما نرسیدن محلول‌های کیت و نمونه بیماران</p>	
<ul style="list-style-type: none"> • PH آب مقطر را چک کنید • تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید. • پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید. 	<p>PH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer، شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها</p>	
<ul style="list-style-type: none"> • پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضا توجه کنید. • پس از هر بار مصرف پلیت را با چسب بپوشانید و کیت را در یخچال نگهداری کنید. 	<p>نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد</p>	

تکرار تست با استانداردهای جدید	آلودگی استاندارد صفر
استفاده از محلول رنگزا جدید	آلودگی محلول رنگزا
<ul style="list-style-type: none"> عدم آلودگی آب مقطر با موادی مانند وایتکس را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید. تمام سوزن‌های دستگاه واشر را چک کنید. 	<p>آلودگی و یا غلظت پایین Wash Buffer، شستشوی نامناسب</p>
<ul style="list-style-type: none"> تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید. طول موج دستگاه را دوباره چک کنید. از فیلتر ۰.۲۳ میکرومتر به عنوان فیلتر فرانس استفاده کنید. 	<p>طول موج نامناسب در خوانش</p>

بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD

<ul style="list-style-type: none"> استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف. از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید. توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد. توجه کنید در هنگام پیپتینگ حباب وارد نوک سمپلر نشود. 	<p>پیپتینگ نامناسب</p>
<p>PH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer</p> <p>PH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید.</p>	<p>PH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer</p>
<p>پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید.</p>	<p>شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها</p>

صحیح نبودن نمودار

فاصله زمانی بین اضافه کردن استانداردها و نمونه نباید بیشتر از ۱۰ دقیقه باشد. در این صورت نتایج قابل اعتماد نیست.	طولانی شدن زمان انجام تست
<ul style="list-style-type: none"> پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضای توجه کنید. پس از هر بار مصرف پلیت را با چسب بپوشانید و کیت را در یخچال نگهداری کنید. 	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد
پیپتینگ صحیح و شستشوی مناسب، پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک ها بلافاصله تست را ادامه دهید.	باقی ماندن کوثر و گه در لبه چاهکها و عدم شستشوی مناسب و یا خشک شدن چاهکها.
در حین انکوباسیون و بعد از Stop کردن واکنش توجه کنید حباب در چاهکها نباشد.	وجود حباب در چاهکها
کف چاهکها را با دستمال نرم و مرطوب، تمیز کنید	کثیف بودن کف چاهکها
قبل از استفاده از ویال محلولها را به آرامی تکان دهید.	مخلوط نشدن محلولهای کیت

عدم تکرار پذیری مناسب.

تکرار تست با محلول Stop جدید	آلودگی محلول Stop
بلافاصله بعد از Stop کردن تست، یا حداکثر تا ۱۵ دقیقه پلیت را بخوانید.	ایجاد وقفه در خوانش
<ul style="list-style-type: none"> استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید. توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد. توجه کنید در هنگام پیپتینگ حباب وارد نشود. توجه کنید جداره خارجی نوک سمپلر حاوی محلول نباشد. کالیبراسیون و تمیز کردن ادواری سمپلرها. 	پیپتینگ نامناسب

عدم تکرار پذیری مناسب

« خلاصه روش آزمایش ۱

نمونه‌ها	استانداردها	معرف‌ها
-	۲۰۰ μl	استانداردها
۲۰ μl	-	نمونه‌ها
۲۰۰ μl	۲۰۰ μl	کوثر و گه

در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه نمایید.

۵ بار با ۳۵۰ μl محلول بافر شستشو رقیق شستشو دهید و با دقت محتویات را خالی کنید.

۱۰۰ μl	۱۰۰ μl	محلول رنگزا
--------	--------	-------------

به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه نمایید.

۵۰ μl	۵۰ μl	محلول متوقف کننده
-------	-------	-------------------

جذب نوری هر چاهک در طول موج nm ۴۵۰ و فیلتر رفرانس nm ۶۳۰ قرائت شود.

« خلاصه روش آزمایش ۲

در برخی از شرایط ممکن است مقادیر هورمون hCG بسیار افزایش پیدا کند (در این نمونه‌ها احتمال بوجود آمدن پدیده هوک وجود دارد. در صورتیکه در نمونه‌ای (با توجه به شرایط کلینیکی بیمار) انتظار اعداد بالاتر از ۱۰۰۰ IU/L را داشته باشیم و در این شرایط عدد بدست آمده در تست کمتر از ۱۰۰۰ IU/L بود لازم است نمونه را با استاندارد صفر رقیق کرده و آزمایش نمایید. از طرفی با استفاده از روش زیر پدیده هوک اتفاق نیفتاده و در نمونه‌های فوق نتیجه تست در نمونه مستقیم (بدون رقیق‌سازی) بالای ۱۰۰۰ IU/L خواهد بود. نتایج تست‌ها با هر دو روش قابل اعتماد بوده ولی بدلیل سادگی، انجام تست به روش اول (یک مرحله‌ای) توصیه می‌شود.

نمونه‌ها	استانداردها	معرف‌ها
-	۵۰ μl	استانداردها
۵۰ μl	-	نمونه‌ها

در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه نمایید.

۵ بار با ۳۵۰ μl محلول بافر شستشو رقیق شده، شستشو دهید.

۵۰ μl	۵۰ μl	کوثر و گه
-------	-------	-----------

در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه نمایید.

۵ بار با ۳۵۰ μl محلول بافر شستشو رقیق شده، شستشو دهید.

۱۰۰ μl	۱۰۰ μl	محلول رنگزا
--------	--------	-------------

به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه نمایید.

۵۰ μl	۵۰ μl	محلول متوقف کننده
-------	-------	-------------------

جذب نوری هر چاهک در طول موج nm ۴۵۰ و فیلتر رفرانس nm ۶۳۰ قرائت شود.



دفتر فروش و خدمات پس از فروش:

تهران . ۲۴ متری سعادت آباد . خیابان یکم شرقی . خیابان شب بوشرقی . پلاک ۱۷
طبقه دوم . واحد ۸ . تلفن: ۴۲۰۸۷۳۰۰ (۰۲۱) . خدمات پس از فروش: ۰۹۱۲۹۴۰۹۱۲۴

کارخانه:

شهرک صنعتی اشتهارد . بلوار ابوریحان بیرونی . بلوار غزالی غربی . خیابان لادن ۲
تلفن: ۳۷۷۷۵۵۳۱ – ۸ (۰۲۱) . فکس: ۳۷۷۷۵۵۲۹ (۰۲۱)

