

جهت کسب نتیجه صحیح از این کیت، حتما به نکات اشاره شده در بروشور دقت نمائید.

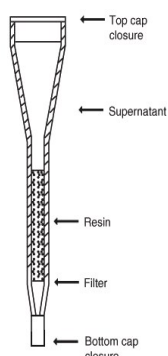
دمای نگهداری کیت
کیت یا جعبه باید در دمای بین 20 تا 30 درجه سانتیگراد نگهداری شود.
روش انجام آزمایش

1- همدمایی: محتویات کیت به همراه تعداد ستون مورد نیاز حداقل یک ساعت قبل از شروع آزمایش باید از جعبه خارج و در دمای آزمایش که بین 22 تا 28 درجه سانتیگراد می باشد، نگهداری شود تا به دمای انجام آزمایش برسد و پس از آن آزمایش شروع شود.

2- تهیه همولیزیت: در یک لوله آزمایش 50 میکرولیتر خون و 250 میکرولیتر از محلول همولیزانت بریزید. لوله را تکان دهید تا خون کاملاً لیز شود.

خون کامل باید با روش استاندارد جمع آوری شده باشد که تا یک هفته در دمای یخچال بین 2+ تا 8+ درجه سانتیگراد قابل نگهداری است. ماده ضد انعقاد در هنگام جمع آوری خون می تواند EDTA و یا هپارین باشد.

خون	50 میکرولیتر
محلول همولیزانت	250 میکرولیتر



3- آماده سازی ستون: ابتدا درب ستون را باز نموده و سپس انتهای ستون را شکسته و بلافاصله به کمک پمپ پاستور پلاستیکی داخل کیت، رزین داخل ستون را 4 تا 5 بار به صورت پیوسته، سوسپانسیون و یکنواخت نمائید. با قرار دادن ستون در یک لوله آزمایش اجازه دهید تا بافر رزین کاملاً خارج شود.

4- افزودن همولیزیت: پس از خارج شدن بافر رزین، مقدار 100 میکرولیتر از همولیزیت تهیه شده را با استفاده از سمپلر به آرامی بر روی سطح رزین اضافه کنید. مدت زمان جذب همولیزیت بر روی رزین حدود یک دقیقه می باشد.

همولیزیت	100 میکرولیتر
----------	---------------

5- تهیه هموگلوبین توتال: 100 میکرولیتر از همولیزیت را در یک لوله آزمایش حاوی 15 میلی لیتر آب دیونیزه بریزید.

آب مقطر	15 میلی لیتر
همولیزیت	100 میکرولیتر

6- بافر جداکننده (Developer): به آرامی 100 میکرولیتر از بافر جداکننده (Developer) را با استفاده از سمپلر بر روی سطح رزین بریزید. منتظر بمانید تا حجم ریخته شده خارج گردد.

بافر جداکننده مرحله اول	100 میکرولیتر
-------------------------	---------------

7- افزودن بافر جداکننده و جمع آوری Hb A2 در لوله آزمایش تمیز:

- جهت جمع آوری HbA2 ستون را بر روی یک لوله آزمایش جدید و تمیز قرار دهید.

معرفی محصول و کاربرد آن
خون برای حمل اکسیژن در بدن از هموگلوبین A یا A1 (HbA) که متشکل از زنجیره های آلفا و بتا می باشد، بهره می برد. اما هموگلوبین A2 (HbA2) که دارای زنجیره های آلفا و دلتا می باشد، مقدار کمی از هموگلوبین خون را تشکیل داده است که این هموگلوبین توانائی مناسب برای حمل اکسیژن خون را ندارد زیرا زنجیره بتا ندارد. در صورتیکه میزان هموگلوبین A2 بیش از مقدار طبیعی باشد، آنگاه فرد از نظر خونی مبتلا به بتا تالاسمی مینور است لذا دانستن مقدار HbA2 برای تشخیص وضعیت کم خونی افراد اهمیت دارد. برای ارزیابی میزان هموگلوبین A2 می توان از روش های مختلفی از جمله تکنیک کروماتوگرافی و یا الکتروفورز استفاده نمود.

اصول آزمایش
در آزمایش پیش روی از تکنیک کروماتوگرافی از نوع تعویض آنیونی و با شرایط کنترل pH برای ارزیابی هموگلوبین A2 استفاده می شود بطوریکه هموگلوبین با بار الکتریکی منفی در هنگام عبور از میکروستون که حاوی ذرات رزین با بار الکتریکی مثبت است، بدان جذب می شود. با افزودن بافر جداکننده، هموگلوبین A2 (HbA2) از سطح ذرات رزین جدا و از انتهای ستون خارج و با روش فوتومتری اندازه گیری می شود.

محتویات کیت	
ستون کروماتوگرافی حاوی رزین	20 pieces
بافر جدا کننده HbA2	100 ml
محلول همولیزانت و یا همولیز کننده	20 ml
پیپت پاستور پلاستیکی	1 piece

- ابزارهای مهم مورد نیاز که در کیت وجود ندارند :
دستگاه اسپکتروفوتومتر و سمپلر

موارد احتیاط
- در هنگام کار از دستکش و لباس محافظ آزمایشگاهی استفاده کنید.
- نگهداری کیت در محدوده غیر از دمای 20 تا 30 درجه سانتیگراد ممکن است موجب نتیجه غیر صحیح شود.
- محصول را دور از حرارت و نور مستقیم آفتاب نگهداری کنید.
- از خوردن و آشامیدن و سیگار کشیدن در حین کار پرهیز کنید.
- کیت مصرف شده را بر طبق قوانین دفع پسماند، دفع کنید.
- در صورت وجود هرگونه آسیب به محصول، از به کار بردن آن خودداری نمائید.
- از به کار بردن کیت با تاریخ منقضی خودداری گردد.
- تمامی نمونه های مورد آزمایش را پاتوژن تلقی نمائید.
- از هر ستون فقط برای یکبار تست استفاده شود.

مشخصه های عملکردی

	In 405nm	In 415nm
CV for normal sample	3.00	2.90
CV for high sample	2.95	2.85

در ارزیابی مقدار HbA₂، نتایج حاصل از این کیت رابطه خطی ذیل را در مقایسه با تکنیک الکتروفورز capillary (CE) نشان داد.

$$Y (\% \text{Hb Padtanteb}) = 0.97 \times (\% \text{Hb CE}) - 0.03$$

خطای سیستماتیک بصورت Bias منفی یا مثبت مربوط به عدم رعایت نکات اشاره شده در کیت در خصوص نحوه ریختن بافر و یا عدم رعایت دمای انجام آزمایش می باشد.

انحراف معیار (SD) در صورت رعایت نکات لازم برای این کیت 0.071 می باشد.

کنترل کیفیت

جهت کنترل کیفی کیت، میتوانید از کنترل های تجاری موجود در بازار استفاده نمایید.

موارد و مواد مداخله گر

- اندازه گیری هموگلوبین A₂ به روش کروماتوگرافی و یا الکتروفورز، نباید در بیمارانی که اخیراً خون دریافت کرده اند صورت پذیرد.
- خون با بیلی روبین تا 0.02g% و لیپمیک بصورت تری گلیسرید تا 1g% تداخلی در نتایج آزمایش ندارد.

References

Ali.M.A.M.& Schwertner, E., AJCP, -63: 549, 1975
Rowley, P.T., Am J Hem 1:129-137, 1976
Abraham EC et al. Hemoglobin 1976-77; 1:27-44.
Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

در صورت بروز هرگونه مشکل با این محصول، لطفاً با تلفن های پشتیبانی تماس حاصل فرمایید.

شرکت پادتن طب

تهران، شهر قدس، میدان مادر، بلوار کیمیاپژوهان،

کوچه پارس، پلاک 8

021 46845880

تلفن سرویس پشتیبانی: 021 46884628 داخلی 103

www.padtanteb.ir

info@padtanteb.ir

SYMBOLS	REF	LOT	IVD	Temperature Range	Use By	Consult Instructions for Use	Manufacturer
EN ISO 15223-1	Catalog No.	Batch No.	In Vitro Diagnostic Use				



Rev 01



- با استفاده از پیت شیشه ای مناسب، دقیقاً مقدار 3 میلی لیتر از بافر جدا کننده را به آرامی و با کمی زاویه در تماس با دیواره داخلی ستون بدان بیافزایید بطوریکه سطح رزین صدمه نبیند.

- منتظر بمانید تا تمامی بافر افزوده شده از انتهای ستون کاملاً خارج گردد. حجم خارج شده باید 3 میلی لیتر باشد و حاوی HbA₂ است.

بافر جداکننده	3 میلی لیتر	محلول خارج شده را جمع آوری کنید.
---------------	-------------	----------------------------------

8- سنجش مقدار HbA₂: قبل از خواندن جذب نوری، محلول را هموژن نمائید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نوری لوله های حاوی HbA₂ و هموگلوبین توتال را حداکثر تا 20 دقیقه پس از جمع آوری در طول موج 415 نانومتر بخوانید. از آب دیونیزه به عنوان بلانک استفاده شود. (در صورت عدم دسترسی به طول موج 415 نانومتر، از طول موج 405 نانومتر نیز می توان استفاده نمود).

توجه: پس از اتمام آزمایش جهت بهبود عملکرد کیت تا پایان تاریخ مصرف، محتویات آن را مجدداً داخل جعبه قرار دهید (دور از نور).

محاسبه نتایج

از فرمول زیر برای محاسبه نتایج استفاده نمائید:

$$\frac{OD \text{ Hb A}_2 (OD \text{ Test})}{OD \text{ Hb Total}} \times 20 = \% \text{HbA}_2$$

محدوده مرجع

HbA₂ در اشخاص نرمال در محدوده 3.5 - 1.5 % و در افراد بتا تالاسمی 8 - 3.5 % می باشد. مقادیر غیر نرمال HbA₂ باید با سابقه بیماری، مقدار MCV، هموگلوبین، هماتوکریت و دیگر یافته های آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار بگیرد. این کیت با Hb F هیچگونه تداخلی ندارد.

در اشخاص نرمال	1.5-3.5 %
در بتا تالاسمی	3.5-8 %

برای مقادیر غیر نرمال آزمایش الکتروفورز Capillary و یا HPLC انجام گردد.

نکات مهم

- در موارد زیر ممکن است که جواب بدست آمده صحیح نباشد:
- انجام آزمایش در دمایی غیر از دمای 22 تا 28 درجه سانتیگراد.
- استفاده از خون غیر تازه (در صورت لزوم نمونه تا یک هفته در دمای یخچال قابل نگهداری است).
- سوسپانسیون نامناسب رزین ستون
- تخلیه ناقص بافر از انتهای ستون در هر مرحله
- عدم رعایت دمای نگهداری کیت
- کالیبره نبودن سمپلر و اسپکتروفتومتر
- طولانی شدن زمان خوانش نتیجه نهایی (بیش از 20 دقیقه)
- پس از تخلیه بافر ستونها و برای اجتناب از خشک شدن سطح رزین، حداکثر 5 دقیقه فرصت دارید تا همولیزیت را به سطح رزین اضافه کنید.
- این کیت برای تمامی سنین قابل استفاده می باشد.
- توجه: بدیهی است صحت و دقت نتایج بدست آمده در گرو رعایت دقیق دستورالعمل کیت می باشد.