

روش کار :

1- یک دیسک خونی به قطر 5 میلی متر از نمونه های بیمار ، کنترل و استاندارد را به درون حفره های میکروپلیت " مخصوص استخراج " بیاندازید. **بهتر است که هر نمونه به صورت دوبله آزمایش شود.** پایه ای مناسب در داخل بن ماری قرار دهید (جا لوله ایی که بطور واژگون در داخل بن ماری قرار داده شده و از سطح آب بالاتر می باشد) بن ماری را روشن نموده پس از رسیدن دمای آب داخل بن ماری به 90-95 درجه ، پلیت حاوی نمونه ها ، کنترل و استاندارد ها را بر روی پایه داخل بن ماری قرار دهید. درب بن ماری را با آرامی ببندید (مراقب باشید که قطرات آب به داخل حفره ها نچکد) 10 دقیقه صبر کنید تا لکه خون بر کاغذ تثبیت شود.

2- به هر یک از حفره ها 150 میکرولیتر از معرف شماره (1) " تامپون استخراج " بریزید تا والین، لوسین و ایزولوسین خون وارد محیط شود. **دقت کنید که تامپون روی دیسکها را کاملا " بپوشاند و از تشکیل حباب هوا در حفره ها جلوگیری شود.**

3- روی پلیت را با سرپوش مخصوص (چسب پلیت) بپوشانید و مدت 60 دقیقه با سرعت مناسب با شیکر نوسانی تکان دهید.

(در صورتیکه عمل تثبیت لکه در مرحله اول بدرستی انجام شده

باشد **محلول استخراج کاملا " شفاف دیده می شود).**

4- 100 میکرولیتر از محلول استخراج شده از نمونه ها را به حفره های هم شماره خود در میکروپلیت شفاف منتقل کنید.

5- متناسب با نیاز ، حجم مساوی از معرف 2 و 3 و 4 را مخلوط کنید.

این مخلوط فقط 5 دقیقه پایدار میباشد.

6- 150 میکرولیتر از این مخلوط را به درون هر حفره بریزید.

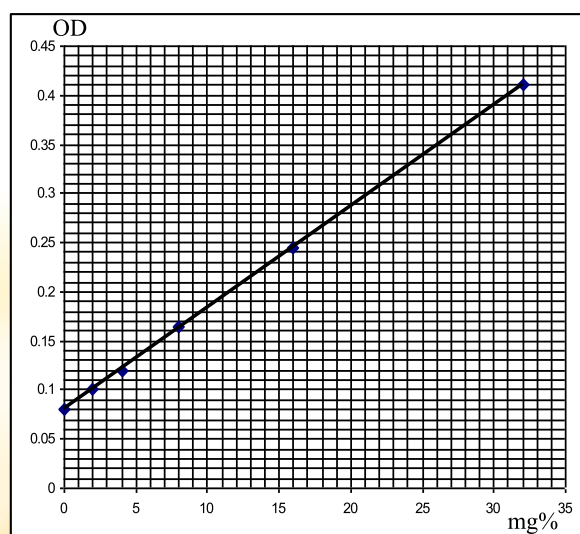
7- روی پلیت را پوشانده و بمدت 60 دقیقه با سرعت مناسب ، با شیکر نوسانی تکان دهید تا واکنش تکمیل شود.

8- جذب نوری را در فاصله 10 دقیقه در طول موج 490 نانومتر (فیلتر رفرانس 630 نانومتر) اندازه گیری کنید.

محاسبه نتیجه آزمایش :

با رسم منحنی استاندارد (غلظت در مقابل جذب نوری) ، نمونه های مجهول را تعیین مقدار کنید.

منحنی استاندارد به صورت شکل زیر می باشد.



محدوده طبیعی (حد رفرانس) :

غلظت طبیعی لوسین در نمونه خون نوزاد سالم کمتر از 4 mg/dl می باشد. (< 4 mg / dl)

جهت تایید نهایی بیماری شربت افرا در نوزاد باید اندازه گیری کمی اسید های آمینه لوسین و ایزولوسین و والین به روش HPLC انجام گیرد. از نوزادانی که لوسین آنها بیش از حد طبیعی است ، باید خونگیری تجدید و آزمایش تکرار شود.

نکته : لازم است که برای هر سری آزمایش ، منحنی استاندارد جدیدی رسم و نمونه های بیمار با آن مقایسه گردد.

کارآیی کیت :

❖ **دقت (Precision) :** دقت درون سیستمی (Intra assay precision) حاصل از انجام 20 تست تکراری برای دو غلظت مختلف 4.7 mg/dl و 8.5mg/dl به صورت زیر می باشد.

غلظت مورد انتظار	± SD	CV %
4.7 mg / dl	0.4	9
8.5 mg / dl	0.4	4.5

❖ **دقت بین سیستمی (Inter assay precision) :** نتایج حاصل از 8 بار تکرار دوبله در غلظت های معین 1mg/dl و 6mg/dl به صورت زیر می باشد.

غلظت مورد انتظار	± SD	CV %
4.7 mg / dl	0.5	11.8
8.5 mg / dl	0.9	10.8



تعدادتست در هر کیت
دور از نور خورشید



دفترچه راهنما
محدودیت دمایی



تاریخ انقضاء
سری ساخت



شماره کاتالوگ
In vitro تشخیص

