IVD-REF: PS-dsDNA	پیشگامان سنجش پیشگام در سنجش و نوآوری	کیت الایزا Anti-dsDNA IgG
Ver. No: 01		Anti-dsDNA IgG ELISA KIT

معرف	۴۸ تستی	۹۶ تستی	آماده سازی
میکروپلیت	1×48 wells	1×96 wells	آماده مصرف
کالیبراتور (0-80-150-500) (IU/ml) کالیبره شده در مقابل استاندارد مرجع NIBSC:15/174 در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده	4×0.7 ml	4×1.0ml	آماده مصرف
نمونه کنترل پایین در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده	1 ×0.7 ml	1 ×1.0ml	آماده مصرف
نمونه کنترل بالا در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده	1 ×0.7 ml	1 ×1.0ml	آماده مصرف
محلول رقیق کننده نمونه (آبی رنگ)	1 ×50ml	2×50ml	آماده مصرف
کونژوگه (قرمز رنگ)	1 ×6.0ml	1 ×12.0ml	آماده مصرف
محلول شستشو غلیظ(20X)	1 ×30.0ml	1 ×30.0ml	به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر یا آب دیونیزه رقیق کنید
محلول سوبسترا–رنگزا (تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه)	1 ×6.0 ml	1 ×12.0ml	آماده مصرف
محلول توقف (اسید کلریدریک ۱ مولار)	1 ×6.0ml	1 ×6.0ml	آماده مصرف

کاربرد:

کیت Anti-dsDNA IgG شرکت پیشگامان سنجش یک روش ایمونواسی برای اندازه‌گیری نیمه‌کمی و کمی آنتی‌بادی‌های اختصاصی از کلاس IgG علیه DNA دو رشته‌ای در سرم یا پلاسمای انسان می‌باشد.

مقدمه:

اتوآنتی‌بادی علیه DNA متعلق به آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های هسته‌ای (ANA) هستند که در چندین بیماری خود ایمنی وجود دارد. آنتی‌بادی‌هایی که با DNA دو رشته‌ای واکنش نشان می‌دهند برای لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) اختصاصی هستند و تقریبا در ٪۸۰-۵۰ بیماران مشاهده شده‌است. لوپوس اریتماتوز سیستمیک یک بیماری خودایمن مزمن است که می‌تواند ارگان‌های متعدد بخصوص پوست، مفاصل، خون، کلیه‌ها و سیستم عصبی مرکزی بدن را درگیر کند. اتوآنتی‌بادی ضد dsDNA در فاز فعال SLE یافت می‌شود. غلظت این آنتی‌بادی‌ها در سرم با شدت بیماری همبستگی دارد. بنابراین شناسایی این اتوآنتی‌بادی‌ها در تشخیص و پایش بالینی دارای اهمیت می‌باشد. اکثر بیماران مبتلا به SLE آنتی‌بادی‌های کلاس IgG علیه DNA دو رشته‌ای دارند. کیت Anti-dsDNA IgG روشی برای تشخیص افتراقی SLE می‌باشد.

اساس آزمایش

مبنای کیت سنجش Anti dsDNA IgG شرکت پیشگامان سنجش ایساتیس بر پایه الایزای غیرمستقیم (Indirect) می‌باشد. در این روش در مرحله اول، نمونه‌های سرم رقیق شده، به پلیت‌های کوت شده با DNA دو رشته‌ای خالص افزوده می‌شود. آنتی‌بادی‌های علیه dsDNA موجود در سرم افراد مبتلا به آنتی‌ژن‌های کف چاهک متصل می‌شود. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، برای حذف آنتی‌بادی‌های آزاد و اتصالات غیر اختصاصی، چاهک‌ها توسط محلول شستشو، شسته می‌شوند. سپس Anti-human IgG کونژوگه با HRP که بر علیه آنتی‌بادی IgG ضد dsDNA انسانی موجود در سرم افراد است به چاهک‌ها اضافه و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط، چاهک‌ها توسط محلول شستشو، شسته می‌شوند. سپس با اضافه کردن محلول سوبسترا- رنگزا و انکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آبی ظاهر می‌گردد. با افزودن محلول متوقف‌گر، واکنش

آنزیمی متوقف می‌گردد و در نهایت شدت جذب نوری در ۴۵۰ و۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس اندازه‌گیری می‌شود. شدت رنگ تولید شده با غلظت آنتی‌بادی ضد dsDNA در نمونه سرم رابطه مستقیم دارد.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نیست :

۱. سمپلرهای ۱۰، ۵۰ ، ۱۰۰ ، ۱۰۰۰ میکرولیتری دقیق. سمپلر ۸ کاناله با قابلیت پیپتینگ ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر و یا دیسپنسر اتوماتیک، اگرچه ضروری نیست ولی باعث بهبود قابل توجه تکرارپذیری و صحت نتایج می‌گردد.

۲. آب مقطر با هدایت کمتر از 1 µS/cm

۳. دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر ۴۵۰ نانومتری و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتری بعنوان فیلتر رفرانس.

۴. کاغذ جاذب رطوبت

۵. دستگاه واشر اتوماتیک یا هر تجهیز دیگر نظیر سمپلر ۸ کاناله یا سرنگ که قادر به ریختن ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو باشد.

۶. لوله جهت رقیق سازی نمونه‌های سرمی

نگهداری کیت:

۱. کیت پس از تحویل باید در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد (یخچال) نگهداری شود. کلیه معرف‌ها و اجزاء کیت تا تاریخ انقضاء مندرج برروی جعبه کیت به شرط نگهداری در دمای یادشده پایدار هستند.

۲. ***هرگز فراتر از تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه از کیت استفاده نکنید.***

۳. غلظت کالیبراتورها و نیز دامنه قابل قبول نمونه‌های کنترل بر روی ویال درج شده است و ممکن است بین شناسه‌های مختلف ساخت تفاوت داشته باشد.

۴. از انجماد کیت یا اجزاء کیت خودداری نمایید.

۵. میکروپلیت باید در کیسه در بسته به همراه نمگیر نگهداری شود. در هنگام استفاده پس از رسیدن دمای کیسه میکروپلیت به دمای اتاق، تعداد لازم استریپ را از کیسه آلومینیومی خارج و مابقی همراه نمگیر بلافاصله به کیسه منتقل و درب کیسه با دقت بسته و به یخچال منتقل گردد.

۶. محلول شستشو باید روزانه و تازه تهیه شود و در همان روز تهیه مصرف شود.

۷. تغییر در خصوصیات فیزیکی معرف‌ها نظیر وجود ذرات معلق در آن‌ها اغلب حاکی از آلودگی و خرابی معرف‌ها می‌باشد.

۸. محلول سوبسترا–رنگ‌زا باید بی‌رنگ باشد. وجود رنگ آبی در این محلول نشان از خرابی و آلودگی آن دارد و باید دور ریخته شود.

۹. کیت‌های باز شده اگر در شرایط توصیه شده در بالا نگهداری شوند، حداکثر به مدت ۸ هفته پایدار خواهند بود.

۱۰. اجزاء کیت‌ها با سری ساخت متفاوت را با یکدیگر مخلوط نسازید و از جابجایی درب معرف‌ها جلوگیری شود.

۱۱. استفاده از سر سمپلر یکبار مصرف برای دقت و صحت و پرهیز از آلودگی برای برداشتن نمونه‌ها استانداردها و کنترل‌ها ضروری است.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

۱. سرم یا پلاسمای EDTA نمونه مناسب برای این آزمایش است.

۲. از نمونه‌های با کدورت بالا، همولیز یا لیپمیک ترجیحاً استفاده نشود.

۳. در صورتی که انجام آزمایش در همان روز جمع‌آوری نمونه امکان پذیر نباشد، نمونه‌ها را می‌توان برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری کرد. برای مدت طولانی‌تر نمونه‌ها باید در$-۲۰^{\circ}C$ سانتیگراد نگهداری شود.

۴. از ذوب و انجماد مکرر نمونه‌ها اجتناب شود. نمونه‌های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی، اما به طور کامل مخلوط شده تا کاملاً یکنواخت و همگن گردد.

احتیاطات و هشدارها

۱. کیت فقط برای تشخیص آزمایشگاهی کاربرد دارد.

۲. کلیه معرف‌های کیت برای سنجش مستقیم Anti-dsDNA IgG در سرم یا پلاسمای EDTA استاندارد شده‌اند.

۳. قبل از آغاز سنجش، دستورالعمل پیش رو را بدقت مطالعه نموده و اطمینان حاصل کنید که تمامی نکات آن را بخوبی فرا گرفته‌اید. همواره از ویرایش معتبر و به روز دستورالعمل که همراه کیت بسته‌بندی شده‌است، استفاده کنید.

۴. کلیه جوانب ایمنی در اجرای آزمایش رعایت شود. برای آگاهی از احتیاطات لازم به "راهنمای اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه (روش‌های صحیح میکروب شناسی و تکنیک‌های صحیح آزمایشگاهی)" تالیف دکتر شهلا فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت ویرایش ۱۳۹۳ مراجعه نمایید.

۵. از تماس تمام معرف‌ها به ویژه محلول توقف که حاوی اسید کلریدریک است با پوست جلوگیری شود. در صورت تماس با آب و صابون شستشو داده شود.

۶. در این کیت برای ساخت برخی اجزاء از سرم انسانی استفاده شده‌است که از نظر آنتی‌بادی علیه HIV-1 and 2 و HCV و آنتی‌ژن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg)، منفی گزارش شده‌اند، ولی از آنجایی که هیچ آزمایشی نمی‌تواند به طور کامل ایمنی یک نمونه با منشاء انسانی را تضمین نماید، با آن همانند یک نمونه بالقوه عفونی رفتار نمایید.

۷. با کلیه نمونه‌های بیمار به عنوان نمونه‌های بالقوه عفونی برخورد نمایید.

۸. برخی از معرف‌ها حاوی سدیم آزاید به عنوان نگهدارنده می‌باشند. سدیم آزاید ممکن است با سرب و مس موجود در لوله کشی آب شهری واکنش داده و تولید آزایدهای فلزی قابل انفجار کند. جهت آگاهی از نحوه وارهایی پسماندهای آزمایشگاهی به "دستورالعمل نحوه مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی" تالیف دکتر شهلا

فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت ویرایش ۱۳۹۴ مراجعه نمایید.

۹. این کیت به روش دستی (غیر دستگاهی) می‌باشد، برای انجام تست با روش دستگاهی با کارشناسان فنی این شرکت تماس حاصل نمایید.

نکات مهم در انجام تست:

۱. فرایند شستشو از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. شستشوی ناکافی باعث عدم جدا شدن پیوندهای غیر اختصاصی و جذب نوری زمینه (Background) می‌گردد.

۲. کیفیت آب مقطر مصرفی در کیفیت محلول شستشو و جدا کردن پیوندهای غیر اختصاصی اهمیت زیادی دارد.

۳. قبل از شروع کار اطمینان حاصل نمایید که دمای کلیه اجزاء کیت به دمای اتاق رسیده باشد.

۴. دمای مطلوب محیط آزمایشگاه برای آزمایش های الایزا ۲۲ تا ۲۷ درجه سانتیگراد می‌باشد.

۵. معرف‌ها و نمونه‌ها را قبل از آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.

۶. بهتر است استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌ها را به صورت دوتایی(Duplicate) و ترجیحاً در دو چاهک عمودی آزمایش کنید و میانگین جذب نوری دو چاهک جهت محاسبه نتایج مورد استفاده قرار گیرد.

۷. جهت پیپت کردن محلول سوبسترا–رنگ‌زا و محلول توقف از میکروپیپت‌های حاوی قطعات فلزی استفاده نکنید.

۸. زمان‌های انکوباسیون و دمای انکوباسیون را با دقت رعایت کنید.

۹. بیش از شش استریپ در هر بار، تست گذاشته نشود.

۱۰. در صورت تمایل به گزارش نتایج به صورت کمی، در هر بار انجام آزمایش منحنی کالیبراسیون را مجدد ترسیم نموده و برای محاسبه نتایج از منحنی ذخیره شده استفاده نکنید.

۱۱. مراحل آزمایش را بدون وقفه انجام دهید. وقفه بین مراحل باعث نتایج کاذب می‌گردد.

۱۲. در کلیه مراحل انجام آزمایش و متعاقب هر مرحله پیپتینگ، چاهک‌ها از نظر وجود حباب بررسی شوند. در صورت وجود حباب با ضربه آهسته به پلیت از محیط خارج شوند.

۱۳. هر نوع نمونه یا ماده کنترلی که حاوی سدیم آزاید یا تیومرسال باشد، با این کیت سازگار نبوده و آزمایش بر روی آن‌ها ممکن است به حصول پاسخ‌های کاذب بیانجامد.

۱۴. اکیدا توصیه می‌گردد آماده سازی نمونه‌ها مطابق روش اعلام شده قبل از انجام تست انجام گیرد.

۱۵. از قرار دادن نمونه‌های آماده شده در یخچال خودداری گردد. نمونه‌های رقیق شده به مدت ۶ ساعت در دمای محیط پایدار هستند. در فاصله زمانی شرایط نگهداری نمونه‌ها باید به گونه‌ای باشد تا از آلودگی‌های شیمیایی و میکروبی اجتناب شود.

آماده‌سازی معرف‌ها:

۱. همه معرف‌ها باید قبل از استفاده به دمای اتاق (۲۷-۲۲°C) برسند.

۲. تهیه محلول شستشو: برای تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، یک حجم از بافر شستشو غلیظ (20X) را با ۱۹ حجم آب مقطر رقیق نمائید.

۳. **نمونه‌های سرمی را با محلول رقیق کننده نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۱ رقیق کنید.**

(به عنوان مثال : ۱۰میکرولیتر نمونه با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده نمونه، سپس به خوبی همگن شود)

روش انجام آزمایش:

۱- تعداد چاهک‌های کوت شده برای استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌های بیمار را انتخاب کنید و مابقی چاهک‌ها را همراه ماده نمگیر درون کیسه مخصوص قرار داده و درب آن را ببندید.

۲- ۱۰۰ میکرولیتر از استانداردها، نمونه‌های کنترل پایین و بالا داخل چاهک‌های مربوطه بریزید.

۳- ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های آماده شده داخل چاهک‌های نمونه بریزید.

۴- درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۷-۲۲°C) انکوبه کنید.

۵- محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را طبق دستورالعمل زیر شستشو دهید:

برای شستشوی چاهک‌ها، ابتدا ۳۵۰ میکرولیتر بافر شستشو را داخل چاهک بریزید، سپس چاهک‌ها را وارونه کرده و همراه با تکان دادن خالی کنید و عمل شستشو را چهار بار دیگر (جمعاً به مدت ۵ بار) تکرار کنید. در انتهای شستشو، با ضربه‌زدن ملایم پلیت بر روی کاغذ یا پارچه جاذب رطوبت تمامی مایع موجود در چاهک‌ها را تخلیه نمائید. بهتراست برای شستشو از دستگاه‌های اتوماتیک واشر که قابل برنامه‌ریزی است استفاده نمایید. که در این صورت به دستورالعمل دستگاه شستشو مراجعه نمایید.

۶- ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه، به تمام چاهک‌ها اضافه کنید.

۷- درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۲-۲۷°C) انکوبه کنید.

۸- مطابق با روش مشروحه بند۶ عمل شستشو را انجام دهید.

۹- ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترا–رنگ‌زا آماده مصرف به تمامی چاهک‌ها اضافه کنید و آن‌ها را بمدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه نمائید.

۱۰- ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده واکنش به همان ترتیبی که محلول سوبسترای رنگ‌زا را اضافه نمودید، به همه چاهک‌ها اضافه کنید. سپس حداکثر ظرف مدت ۵ دقیقه جذب نوری هر چاهک را در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر قرائت نمائید (در صورت امکان از طول موج ۶۳۰ نانومتر بعنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید).

محاسبه کمی نتایج:

با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها روی محور عمودی (محور Y) و غلظت آن‌ها روی محور افقی (محور X) بر روی کاغذ میلی‌متری، منحنی استاندارد را از طریق ترسیم خطوطی که از تمامی نقاط تلاقی عبور کرده است، ترسیم کنید.

میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور Y جای آن را 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.

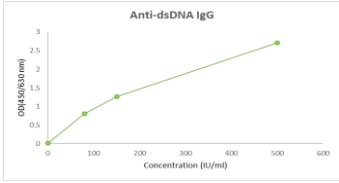
در صورتیکه از اسپکتروفتومتر مخصوص میکروپلیت که مجهز به سیستم پردازش داده‌های داخلی است استفاده می‌کنید، جهت محاسبه نتایج و ترسیم منحنی کالیبراسیون به دستورالعمل دستگاه مراجعه نمایید. برای محاسبه نتایج Anti dsDNA-IgG شرکت پیشگامان سنجش ایساتیس از مدل محاسباتی نقطه-به-نقطه (Point-to-point) استفاده کنید.

داده‌های نمادین منحنی کالیبراسیون

مقادیر جذب نوری ارائه شده در جدول ذیل به عنوان داده‌های نمادین آورده شده‌است. لازم به یادآوری است این داده‌ها فقط جنبه راهنمایی داشته و هر آزمایشگاهی باید برای هر بار آزمایش یک منحنی استاندارد جدید براساس نتایج بدست آمده در آزمایشگاه خویش ترسیم نماید.

Standard Conc. (IU/ml)	OD
0	0.016
80	0.80
150	1.26
500	2.71

Calibration curve



معیارهای صحه‌گذاری ران کاری:

در پایان هر ران کاری باید معیارهای زیر بدست آید، در غیر اینصورت فرآیند انجام تست معتبر نبوده و باید پس از رفع مشکل، تست مجددا تکرار شود:

Reagent	OD
Standard 0 IU/ml	< 0.1
Standard 80 IU/ml	> 0.1
Standard 500 IU/ml	> 1.2

محاسبه نیمه کمی نتایج

در کیت Anti dsDNA استاندارد ۸۰ نزدیک‌ترین استاندارد به cut-off است. در آزمون نیمه کمی لازم است علاوه بر استاندارد 80 IU/ml استانداردهای 0 IU/ml و 500 IU/ml را نیز بگذارید. اگر مایل به محاسبه نیمه کمی نتایج هستید، می‌توان از آن به عنوان معیار تفکیک پاسخ‌های مثبت از منفی استفاده نمایید. برای این منظور می‌توانید از شاخص COI (Cut-off Index) استفاده نمایید. برای محاسبه COI کافی است جذب نوری بدست آمده از نمونه‌های بیمار را به جذب نوری استاندارد ۸۰ که نزدیک‌ترین استاندارد به cut-off است تقسیم نمایید:

$$COI = \frac{OD\ sample}{OD\ cut\ off (80\ \text{IU/ml Standard})}$$

مقادیر مورد انتظار:

نتایج کمی(IU/ml)	تفسیر کمی نتایج
<100	Negative
≥100	Positive

نتایج نیمه کمی (COI)	تفسیر کیفی نتایج
<0.9	Negative
≥1.1	Positive
0.9-1.1	Equivocal

نتایج سرولوژی این کیت نباید به عنوان تنها معیار برای مداخلات درمانی مبنا قرار گیرد و باید در کنار سایر معیارها نظیر تابلوی بالینی بیمار تفسیر شود.

کنترل کیفی:

در هر کیت دو نمونه کنترل پایین و بالا وجود دارد که غلظت هر کدام بر روی ویال مربوطه درج شده است. علاوه بر این، آزمایشگاه می‌تواند در هر ران از نمونه‌های مثبت ران‌های پیشین، مشروط بر اطمینان از پایداری آنتی‌بادی در آن نیز استفاده نماید.

اختصاصیت تشخیصی:

اختصاصیت تشخیصی که با درصد افراد با تفسیر منفی (کسر عددی ضرب در ۱۰۰) در عدم حضور آنتی‌بادی اختصاصی مشخص می‌شود، برای این کیت معادل٪۹۵ (بازه اطمینان ۹۵٪ از ۸۴.۹٪ تا ۹۸.۷٪) بدست آمد

حساسیت تشخیصی:

حساسیت تشخیصی که با درصد افراد با تفسیر مثبت (کسر عددی ضرب در ۱۰۰) در حضور آنتی‌بادی اختصاصی مشخص می‌شود، برای این کیت معادل ۹۱٪ (بازه اطمینان ۹۵٪ از ۷۸.۲٪ تا ۹۷.۱٪) بدست آمد.

خصوصیات اجرایی کیت

۱- دقت (Precision):

دقت روش با استفاده از کلیه معرف‌های کیت Anti dsDNA شرکت پیشگامان سنجش و سه انباشته سرمی تهیه شده از نمونه‌های بیمار مطابق با راهنمای EP 05-A3 مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) بدست آمد.

طی ۱۰ روزکاری، سه کاربر و هر یک روزانه سه ران اندازه‌گیری‌های تکراری به صورت دوتایی در هر ران بر روی نمونه‌های یاد شده انجام دادند (۲×۳×۳×۱۰). نتایج به کمک یک نرم‌افزار صفحه گسترده و با روش آماری Fully nested ANOVA تحلیل گردید، خلاصه نتایج در جدول زیر آورده شده است:

		Repeatability		Within-Laboratory Precision	
Sample Description	**Mean (IU/ml)**	**SD**	**%CV**	**SD**	**%CV**
Patient Pool A	45.31	2.80	6.17	3.40	7.50
Patient Pool B	95.21	8.54	8.96	7.87	8.26
Patient Pool C	346.11	30.12	8.70	34.22	9.88

۲- اختصاصیت آنالیتیک (Analytical Specificity):

در این کیت هموگلوبین تا ۵۰ mg/ml، بیلی‌روبین تا ۲۰mg/dL، و تری‌گلیسریدها تا ۱۰۰۰ mg/ml تأثیری بر سنجش ندارند.

منابع و مراجع:

1. Hahn BH. Antibodies to DNA. N Engl J Med 1998; 338:1359.
2. Swaak AJ, Groenwold J, Bronsveld W. Predictive value of complement profiles and anti-dsDNA in systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 1986; 45:359.
3. ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, et al. Measurement of increases in anti-double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus. A long-term, prospective study. Arthritis Rheum 1990; 33:634.
4. Schur PH, Sandson J. Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 1968; 278:533.
5. Ho A, Magder LS, Barr SG, Petri M. Decreases in anti-double-stranded DNA levels are associated with

concurrent flares in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2001; 44:2342.

خطایابی در آزمایش الایزا

نوع مشکل	علت مشکل	راه حل
پایین بودن OD استانداردها و نمونه‌ها	افت و یا آلودگی کونژوگه	تکرار تست با کونژوگه جدید
	پایین بودن دما و یا کوتاه بودن زمان انکوباسیون، به دما نرسیدن محلولهای کیت و نمونه بیماران	دمای آزمایشگاه و تایمر را چک کرده و تست را تکرار کنید قبل از شروع آزمایش کیت و نمونه بیماران به دمای اتاق برسد
	pH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer، شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها	pH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید

	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضاء توجه کنید پس از هر بار مصرف پلیت را با چسب بپوشانید و کیت را در یخچال نگهداری کنید
	طول موج خوانش نامناسب (۴۰۵ nm بجای ۴۵۰ nm)	تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید طول موج دستگاه را دوباره چک کنید
صحیح نبودن نمودار استانداردها	آلودگی استانداردها	از سری استاندارد جدید استفاده کنید
	پیپتینگ نامناسب	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
	pH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer، شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها	pH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید
بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD	آلودگی استاندارد صفر	تکرار تست با استانداردهای جدید
	آلودگی محلول رنگزا	استفاده از محلول رنگزا جدید
	آلودگی و یا غلظت پایین Wash Buffer، شستشوی نامناسب	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
	طول موج نامناسب در خوانش	تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید طول موج دستگاه را دوباره چک کنید

		از فیلتر ۶۳۰ نانومتر بعنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید
	آلودگی محلول Stop	تکرار تست با محلول Stop جدید
عدم تولید رنگ در چاهک‌ها	استفاده از مواد سایر کیت ها	تکرار تست با مواد همان کیت
	انجام نشدن مرحله ای از تست	تکرار تست
	آلودگی محلول رنگزا	تکرار تست با محلول رنگزا جدید
	آلودگی محلول کونژوگه با سدیم آزاید	تکرار تست با محلول کونژوگه جدید
	پیپتینگ نامناسب، گرفتگی لوله داخلی سمپلر بواسطه آلودگی	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 سمپلر ها
	طولانی شدن زمان انجام تست	فاصله زمانی بین اضافه کردن استانداردها و نمونه نباید بیشتر از ۱۰ دقیقه باشد. در این صورت نتایج قابل اعتماد نیست
	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضاء توجه کنید

عدم تکرار پذیری مناسب	باقی ماندن کونژوگه در لبه چاهک‌ها و عدم شستشوی مناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها	پیپتینگ صحیح و شستشوی مناسب، پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید
	وجود حباب در چاهک‌ها	در حین انکوباسیون و بعد از Stop کردن واکنش توجه کنید حباب در چاهک‌ها نباشد
	کثیف بودن کف چاهک‌ها	کف چاهک‌ها را با دستمال نرم و مرطوب، تمیز کنید
	مخلوط نشدن محلولهای کیت	قبل از استفاده، ویال محلولها را به آرامی تکان دهید