کیت سنجش اینترلوکین ۶ (IL-6) به روش الایزا

حیطه کاربرد :

کیت الایزای IL-6 پیشتاز طب، برای سنجش کمی IL-6 در سرم انسان طراحی شده است.

مقدمه :

اینترلوکین ۶ سایتوکاینی با خواص پیش التهابی و همچنین ضد التهابی است. این سایتوکاین توسط سلولهای مختلفی در بدن ترشح می شود اما سلولهای سیستم ایمنی مهمترین سلولهای ترشح کننده این سایتوکاین می باشند. میزان اینترلوکین ۶ در سرم افراد نرمال بسیار کم است اما به دنبال تغییر شرایط فیزیولوژیک بدن ترشح این سایتوکاین افزایش می یابد.

ترشح IL-6 در بیماریهایی مانند تصلب شرایین، آلزایمر، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، مالتیپل میلوما، آرتریت روماتوئید، بیماریهای خود ایمنی، بیماریهای التهابی مزمن و انواع مختلف سرطان و... مشاهده می‌شود. همچنین در اختلالات متابولیک مانند دیابت نیز سطح افزایش یافته این سایتوکاین در خون بیماران مشاهده شده است. بنابراین، کنترل میزان IL-6 در طول بیماری خصوصاً فعال شدن آنها پس از فعال سازی پاسخ ایمنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

افزایش این سایتوکاین در بیماریهای باکتریایی و ویروسی نیز حائز اهمیت می باشد. مطالعات نشان داده است که بعد از ورود ویروس به بدن و ابتلا به عفونت ویروسی، ماکروفاژها (یکی از انواع سلولهای سیستم ایمنی) برای دفاع در برابر ویروس فعال شده و IL-6 تولید می‌کنند. تحریک تولید IL-6 و ترشح سایر سایتوکاین ها باعث ایجاد واکنش شدید سیستم ایمنی می‌شود و همچنین طوفان سایتوکاینی نیز به دلیل فعال شدن سلول‌های T و افزایش ترشح IL-6 و دیگر سایتوکاین های پیش التهابی مشاهده می‌شود. بنابراین، تشخیص و کنترل پاسخ‌های پیش التهابی در مراحل اولیه عفونت ویروسی بسیار مهم است. در بیماری کووید-۱۹ نیز پاسخ التهابی تهاجمی با تولید مقدار زیادی سایتوکاین های پیش التهابی (طوفان سایتوکاینی) همراه است که موجب شدت یافتن بیماری شده و موجب التهاب ریوی، آسیب به ریه و دیگر ارگان‌ها می‌شود.

نتیجه مطالعاتی که تاکنون انجام شده است حاکی از آن است که افزایش میزان سایتوکاین های پیش التهابی در سرم مانند IL1β، IL-6، IL-12، IFN-γ، IP-10 و MCP-1 با التهاب ریوی در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ مرتبط می‌باشد.

سطح بالایی از IL1β، IFN-γ، IP-10 و MCP-1 در سرم بیماران مبتلا به کرونا که در بخش مراقبتهای ویژه بستری بودند گزارش شده است، که احتمالاً به دلیل پاسخ سلول T-helper-1 (Th1) فعال شده است. علاوه بر این، سطوح TNF-α، IL-6 و IL-10 با شدت بیماری کووید-۱۹ ارتباط مستقیم دارد. بنابراین اندازه گیری IL-6 به عنوان یکی از مهمترین سایتوکاین های التهابی در تعیین شدت التهاب ناشی انواع بیماریهای التهابی بسیار کارآمد می باشد.

اساس آزمایش :

اساس این کیت به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلونال می باشد. در این روش چاهکها توسط آنتی بادیهایی بر علیه یک شاخص آنتی ژنیک IL-6 پوشش داده می شوند (Coating). نمونه بیماران با آنتی بادی پوشش داده شده در ته چاهکها مجاور شده، پس از انکوباسیون و شستشو، آنتی بادی ثانویه ضد IL-6 متصل به آنزیم HRP به چاهکها اضافه شده و انکوبه می گردد. مقدار کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکها با غلظت IL-6 در نمونه ها متناسب است، پس از شستشو، محلول رنگزا که محتوی هیدروژن پراکسید (H_2O_2) وکروموژن است به داخل چاهکها ریخته می شود که رنگ آبی پدید آمده متناسب با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکهاست. با افزودن محلول متوقف کننده رنگ آبی به زرد تبدیل می شود که بهترین جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد.

محتویات کیت:

۱) پلیت حاوی چاهکهای پوشش داده شده با آنتی بادی ضد IL-6 (Anti-h IL-6 Coated Plate).

۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی محلول کونژوگه آماده مصرف.

۳) سری استانداردها (Standards Set): شامل ۷ ویال ۱ میلی لیتری استاندارد، آماده مصرف با غلظتهای 0, 5, 10, 25, 100, 300 و 600 pg/ml.

۴) سرم کنترل (Control Sera): دو ویال یک میلی لیتری حاوی سرم کنترل آماده مصرف با غلظتهای مشخص شده بر روی برچسب ویال.

۵) محلول اسی بافر (Assay Buffer): یک ویال ۶ میلی لیتری حاوی محلول بافری آماده مصرف.

۶) محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-Substrate): یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی محلول آماده مصرف.

۷) محلول شستشو (Wash Solution): یک ویال ۵۰ میلی لیتری حاوی محلول شستشوی غلیظ (۲۰x). جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت ۱/۲۰ رقیق نمایید.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution): یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی محلول آماده مصرف.
۹) برچسب مخصوص پلیت.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی باشند :

۱) دستگاه الایزاریدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر.
۲) سمپلر ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر دقیق.
۳) شیکر الایزا .
۴) آب مقطر .

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان :

۱) محتویات این کیت برای مصرف در همین کیت طراحی شده است .
۲) از مخلوط کردن محتویات کیتها با شماره ساختهای مختلف جداً خودداری نمایید .
۳) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg و آنتی بادی های ضد HCV و HIV کنترل گردیده اند و فاقد این عوامل می باشند، جهت احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند.
۴) نمونه بیماران، استانداردها، کنترلها و چاهکهای استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمامی محلولهای واکنش گر و معرفها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحا شوند.

شرایط نگهداری :

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمایید.
۲) چاهکها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نمگیر نگهداری نمایید.
۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضاء نوشته شده بر روی هر یک از آنها می باشد.
۴) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱/۲۰ رقیق شده باشد به مدت یک هفته در شرایط ۸-۲ درجه سانتی گراد قابل نگهداری و مصرف می باشد.

جمع آوری و آماده سازی نمونه :

سرم را می توان پس از جدا نمودن از خون استفاده نمود، نمونه را می توان به مدت سه روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد و یا برای مدت زمان طولانی تر (حداکثر ۳۰ روز) در دمای ۲۰- و یا ترجیحا ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمود. در ضمن باید از Freeze-thaw نمودن نمونه پرهیز شود .

توضیحات عمومی :

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه ها را به درجه حرارت اتاق رسانده و به خوبی تکان دهید تا کاملاً یکنواخت شوند.
۲) بهتر است به محض شروع آزمایش کلیه مراحل بدون توقف انجام پذیرند.
۳) از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید.
۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده جذب نوری چاهکها حداکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می باشد.
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهکها به صورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهکها تخلیه شود.
۶) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب زمان انکوباسیون مناسب می باشد، بنابراین پیشنهاد می گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلولهای مورد نیاز را آماده نموده و درب محلولهای مورد نیاز را باز کنید، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیقتر می شود.
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه ها بیش از ۵ دقیقه به طول نیانجامد.

مراحل انجام آزمایش :

۱) تعداد چاهکهای مورد نظر را انتخاب نموده و باقی چاهکها را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید.
۲) ۵۰ میکرولیتر از محلول اسی بافر (Assay Buffer) را به همه چاهکها اضافه نمایید.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

۳) ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد، سرم کنترل و نمونه را به داخل هر چاهک بریزید (پیشنهاد می گردد که از استانداردها و نمونه ها به صورت داپلیکیت استفاده شود بدین معنی که هر استاندارد و نمونه را در دو چاهک بریزید و در انتها از میانگین جذب نوری آنها برای محاسبه نتایج استفاده کنید) و پلیت را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات آن به خوبی مخلوط شوند. درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۱۲۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق (۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد) برروی شیکر با دور 200 rpm انکوبه نمایید .

۴) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را پنج بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید. (برای شستشو می توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود زیرا می تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد، در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمائید و در انتهای عملیات شستشو چاهکها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نمگیر بزنید تا قطرات اضافی خارج شوند).

۵) ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate) را به هر چاهک اضافه نموده، درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۶۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق (۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد) برروی شیکر با دور 200 rpm نکوبه نمایید .

۶) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را پنج بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (همانند بند ۴).

۷) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا (Chromogen-Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید.

۸) چاهکها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید.

۹) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک ادامه واکنشهای آنزیمی را متوقف نمایید. برای سنجش جذب نوری از دستگاه الایزاریدر با فیلتر ۴۵۰ nm استفاده نمایید. (توصیه می شود از فیلتر ۶۳۰ nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد).

محاسبه نتایج :

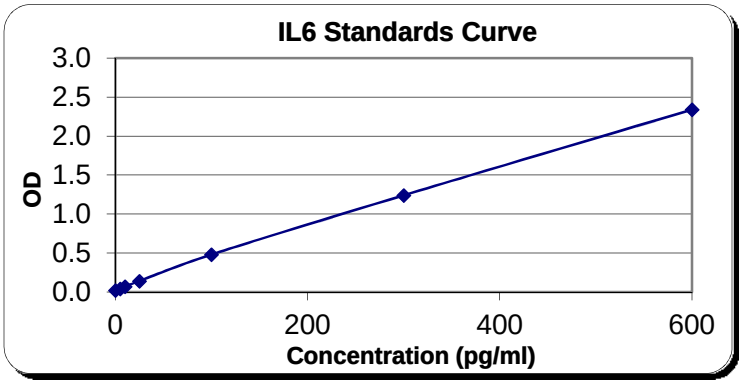
از هر دستگاه الایزاریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰nm میتوان استفاده نمود.

۱) جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه الایزاریدر در طول موج ۴۵۰nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس ۶۳۰ nm) بخوانید.

۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آنها نموداری (Point to point) رسم کنید به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آنها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید، سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید.

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن راپیدا کنید، سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید به طوریکه این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد و بعد از محل تلاقی خط و منحنی، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید، نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد.

جذب نوری	استانداردها (pg/ml)
۰/۰۲	۰
۰/۰۴	۵
۰/۱	۱۰
۰/۲۳	۲۵
۰/۵	۱۰۰
۱/۰	۳۰۰
۲/۲	۶۰۰



توجه: جذبهای نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید.

مقادیر مورد انتظار:

مقادیر نرمال در ۸۱ عدد سرم افراد طبیعی توسط تستهای مکرر به روش الایزا بدست آمد. میانگین 1.2 pg/ml محاسبه شد. بر اساس میانگین به دست آمده، مقادیر کمتر از 5 pg/ml به عنوان محدوده مرجع تعیین شد. ولی پیشنهاد می گردد هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

محدودیت روش اندازه گیری:

نتایج تست می بایست همراه با سایر تست ها و روش های تشخیصی مورد تفسیر قرار گیرد. گاهی اوقات آنتی بادی های هتروفیل که در نمونه سرم برخی از بیماران دیده می شوند، با وجود مواد بلاک کننده قوی ضد آنها در محلول های کیت، امکان تداخل دارند.

شاخصهای اجرایی :

۱) حداقل مقدار قابل اندازه گیری:

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و محاسبات انجام شده Limit of Detection (LOD):1.6 pg/ml می باشد.

۲) دقت آزمایش :

آزمایشهای اینترا–اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در یک سری آزمایش) و اینتر– اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در سری آزمایشات مختلف) با استفاده از ۴ سرم با غلظتهای مختلف IL-6 انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است :

جدول شماره ۱ (اینترا – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین pg/ml	SD	CV %
۱	۲۰	۲/۸	۰/۲	۷/۱
۲	۲۰	۱۰/۸	۰/۶	۵/۵
۳	۲۰	۳۹/۶	۱/۸	۴/۵
۴	۲۰	۹۵/۶	۱/۹	۲/۰

جدول شماره ۲ (اینتر – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین pg/ml	SD	CV %
۱	۲۰	۲/۴	۰/۲	۸/۳
۲	۲۰	۱۰/۹	۰/۷	۶/۴
۳	۲۰	۳۹/۷	۲/۱	۵/۳
۴	۲۰	۹۶/۲	۲/۹	۳/۰

هر سری آزمایش به صورت Duplicate انجام شده است .

۳) صحت:

تعداد ۹۸ نمونه به طور همزمان با کیت الایزای پیشتاز طب و کیت تجاری معتبر دارای نشان IVD وCE تست شدند. که همبستگی به دست آمده بین دو کیت ۹۵/۲ درصد محاسبه گردید.

۴) ریکاوری آزمایش:

استاندارد با غلظت مشخص به سه نمونه سرم با مقادیر معلومی از IL-6 افزوده شد و ریکاوری محاسبه شده آنها عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می دهد.
(جهت تست ریکاوری از استاندارد های کیت استفاده نشود.)

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

نمونه	مقدار IL-6 موجود در سرم (pg/ml)	مقدار IL-6 افزوده شده (pg/ml)	مقدار مورد انتظار (pg/ml)	مقدار بدست آمده (pg/ml)	ریکاوری (%)
۱	۳/۴	۱۰/۳	۶/۸	۶/۲	۹۱/۱
۱	۳/۴	۳۰/۵	۱۶/۹	۱۶/۳	۹۶/۴
۱	۳/۴	۷۰	۳۶/۷	۳۸	۱۰۳/۵
۲	۳۱/۲	۱۰/۳	۲۰/۷	۲۱	۱۰۱/۴
۲	۳۱/۲	۳۰/۵	۳۰/۸	۳۱/۵	۱۰۲/۲
۲	۳۱/۲	۷۰	۵۰/۶	۵۲	۱۰۲/۷
۳	۷۳	۱۰/۳	۴۱/۶	۴۳	۱۰۳/۳
۳	۷۳	۳۰/۵	۵۱/۷	۵۳	۱۰۲/۵
۳	۷۳	۷۰	۷۱/۵	۷۴/۶	۱۰۴/۳
۴	۲۵۰	۱۰/۳	۱۳۰/۱	۱۲۴/۵	۹۵/۷
۴	۲۵۰	۳۰/۵	۱۴۰/۲	۱۳۶/۳	۹۷/۲
۴	۲۵۰	۷۰	۱۶۰	۱۷۵	۱۰۹/۳

۵) خطی بودن آزمایش :

به کمک استاندارد صفر رقتهای متوالی ۳ نمونه سرم (به صورت چهار رقت متوالی از۱:۲ تا ۱:۱۶) تهیه گردید و نتایج خطی بودن بر اساس ضریب رقت محاسبه شده عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می دهد.

نمونه	مقدار IL-6 موجود در سرم رقیق نشده (pg/ml)	ریکاوری (٪)			
		رقت ۱/۲	رقت ۱/۴	رقت ۱/۸	رقت ۱/۱۶
۱	۹۵/۸	٪۹۶	٪۹۱	٪۹۷	٪۱۰۹
۲	۸۳/۶	٪۹۵	٪۱۰۸	٪۱۰۰	٪۹۰
۳	۶۴/۹	٪۱۰۳	٪۹۴	٪۱۰۹	٪۹۸

۶) تداخل:

جهت بررسی تداخل کیت به سه نمونه سرم مقادیر زیر از عوامل مداخله گر هموگلوبین، تری گلیسرید و بیلی روبین اضافه و تغییرات میزان ارزش نمونه در قبل و بعد از افزودن عوامل مداخله گر محاسبه شد و نتایج جدول مربوطه به دست آمد.

آنالیت مداخله گر	غلظت آنالیت مداخله گر	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله گر (pg/ml)	ارزش نمونه بعد از افزودن آنالیت مداخله گر (pg/ml)	تفاوت نتایج (٪)
هموگلوبین	1 mg/ml	20.6 53.6 568	20.3 50.8 542	-1.4 -5.2 -4.57
تری گلیسرید	3000 mg/dL	20.6 53.6 568	21 52.1 586.7	1.94 -2.8 3.29
بیلی روبین	20mg/dL	20.6 53.6 568	20.4 51.7 554	-1 -3.5 -2.46

بر اساس نتایج به دست آمده تداخل ایجاد شده تغییر چشمگیری در نتایج ایجاد نکرد و قابل قبول می باشد.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

۷) اثر هوک (Hook Effect):

آزمایش IL-6 جهت سرمهائی با غلظت بسیار بالا از این آنالیت (تا 60000 pg/ml) صورت گرفت که پدیده هوک مشاهده نشد.

References:

1) Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S: The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochim Biophys Acta 2011, 1813:878-888.
2) Zhou J, He W, Liang J. Association of interleukin-6 level with morbidity and mortality in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Jpn J Infect Dis. 2021; 74(4):293-298.
3) Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. JAMA. 2020; 323(20):2052–2059.
4) Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 2020; 395: 497–506.
5) Nagasaki T, Hara M, Shiga K, Takeyama H: Relationship between inflammation and cancer progression: review of recent advances in interleukin-6 signaling and its blockage in cancer therapy. Recept Clinic Invest 2014, doi:10.14800/rci202.
6) Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T: IL-6 in inflammation, immunity and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 2014, 6:a016295.
7) Xie K, Dai K, Qu X, Yan M: Serum and synovial fluid interleukin-6 for the diagnosis of periprosthetic joint infection. Scient Rep 2017, 7:1496, doi:10.1038.
8) Dima A, Jurcut C, Balanescu P, Balanescu E, Badea C, Caraiola S, Miler I, Ramba D, Ionescu R, Baicus C, Dan GA, Mircescu G: Clinical significance of serum and urinary interleukin-6 in systemic lupus erythematosus. Egypt Soc Rheum Dis 2017, 39:1-6.
9) Reiss AB, Siegart NM, Leon JD: Interleukin-6 in atherosclerosis: atherogenic or atheroprotective? Clinic Lipid 2017, 12(1):14-23.
10) Phosat C, Panprathip P, Chumpathat N, Prangthip P, Chantratita N, Soonthornworasiri N, Puduang S, Kwanbunjan K: Elevated C-reactive protein, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and glycemic load associated with type 2 diabetes mellitus in rural Thais: a crosssectional study. BMC Endoc Disord 2017, 17:4.

روش انجام آزمایش اینترلوکین ۶ (IL-6) به صورت شماتیک

چاهکهای کوت شده با آنتی بادی ضدIL-6			
محلولها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
اسی بافر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
استانداردها	۵۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۵۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۵۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات چاهکها به خوبی مخلوط شوند. سپس دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. ۱۲۰ دقیقه در دمای اتاق بر روی شیکر با دور 200 rpm انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید. طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید.			
آنزیم کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. ۶۰ دقیقه در دمای اتاق بر روی شیکر با دور200 rpm انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید. طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید.			
محلول رنگزا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید.			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهکها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر(ودرصورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید.			

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰

جدول محتویات کیت

محتویات کیت	فرمت ۴۸ تستی	فرمت ۹۶ تستی	فرمت ۱۹۲ تستی
پلیت **Plate**	1 × 48 Wells	1 × 96 Wells	2 × 96 Wells
محلول اسی بافر **Assay Buffer**	1 × 3 ml	1 × 6 ml	1 × 12 ml
محلول آنزیم کنژوگه **Enzyme Conjugate**	1 × 6 ml	1 × 12 ml	2 × 12 ml
سری استانداردها **Standards Set**	St. 7 × 0.5 ml	St. 7 × 1 ml	St. 7 × 2 ml
سرم کنترل **Control Sera**	2 × 0.5 ml	2 × 1 ml	2 × 2 ml
محلول شستشو **Wash Solution**	1 × 25 ml	1 × 50 ml	2 × 50 ml
محلول متوقف کننده **Stop Solution**	1 × 6 ml	1 × 12 ml	2 × 12 ml
محلول رنگزای یک مرحله ای **Chromogen - Substrate**	1 × 6 ml	1 × 12 ml	2 × 12 ml
برچسب مخصوص پلیت **Cardboard Sealer**	1	1	2

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – آبان ۱۴۰۰