HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS

کیت سنجش HCV Ab به روش الایزا

حیطه کاربرد:

کیت الایزای Anti-HCV پیشتاز طب برای سنجش کمی آنتی‌بادی علیه ویروس هپاتیت C (HCV) در سرم یا پلاسمای انسان طراحی شده است. این کیت برای بررسی اولیه عفونت HCV کاربرد دارد. محتویات این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می‌باشد.

مقدمه:

ویروس هپاتیت C (HCV) که در سال ۱۹۸۹ شناخته شد، از خانواده فلاویویریده (*Flaviviridae*) بوده و عامل هپاتیت منتقل شونده از طریق انتقال خون است. قبل از کشف این ویروس، عامل ایجاد کننده این نوع هپاتیت را nonA-nonB می‌نامیدند. ژنوم این ویروس شامل یک RNA تک رشته‌ای باحدود ۱۰۰۰۰ نوکلئوتید به همراه یک کپسید، یک ماتریکس و یک غلاف می‌باشد. این ویروس، کدکننده یک پیش‌ساز پلی‌پروتئینی است که به ۳ بخش ساختمانی Core، E1، E2 و ۶-۴ بخش غیرساختاری پروتئینی NS1، NS2، NS3، NS4 و NS5 تقسیم می‌شود. از لحاظ ژنتیکی ویروس هپاتیت C به شش ژنوتیپ اصلی (ماژور) و حداقل ۸۰ زیر گونه تقسیم می‌شود. مطابق مطالعات انجام شده ژنوتیپ‌های شایع در ایران به ترتیب 1a، 3a، 1b و 4 بوده و میزان ابتلا به این عفونت در ایران، حدود ۱٪ جمعیت می‌باشد. انتقال این ویروس از راه خون و محصولات آن و سرنگ آلوده می‌باشد. همچنین احتمال آلودگی توسط وسایل آلوده که در خالکوبی، سوراخ کردن گوش، ختنه کردن و دستگاه‌های همودیالیز استفاده می‌شوند، وجود دارد. قبل از آنکه عملیات غربالگری در مورد این ویروس انجام گیرد، حدود ۹۰ ٪ هپاتیت‌های بعد از انتقال خون بوسیله این ویروس بوجود می‌آمد. انتقال از مادر به فرزند و یا از طریق جنسی بسیار محدود است. بیشتر افرادی که به عفونت حاد HCV مبتلا هستند، بدون علامت بوده و یا دارای علائم خفیفی همچون احساس خستگی، تهوع و زردی می‌باشند. دوره نهفته بیماری قبل از بروز اولین علائم بین ۱۵ تا ۱۵۰ روز است. در حدود ۸۰ ٪ موارد این بیماری مزمن می‌شود که از این میزان ۲۰-۱۵ ٪ به سیروز می‌انجامد و در ادامه از این مقدار ۴-۱ ٪ مبتلا به سرطان کبد می‌گردند. جداسازی آنتی‌بادی اختصاصی تولید شده علیه آنتی‌ژن‌های اختصاصی این ویروس در شناسایی افراد آلوده بسیار حائز اهمیت است. از میان روش‌هایی که امروزه برای تشخیص این بیماری کاربرد دارند، روش الایزا از حساسیت بالایی برخوردار بوده و به منظور بررسی اولیه از آن استفاده می‌شود. نمونه‌های مثبت با این روش، بایستی با روش‌های تاییدی مانند Western Blot مجدداً آزمایش شده و بررسی گردند. کیت حاضر از نسل سوم الایزا با حساسیت و اختصاصیت بالا بوده و قابلیت اندازه‌گیری آنتی‌بادی اختصاصی علیه HCV را دارد.

اساس آزمایش:

اساس آزمایش در این کیت بر روش Indirect Enzyme Immunoassay استوار است. چاهک‌های پلیت با آنتی‌ژن‌های نوترکیب NS3، NS4، NS5 و CORE مربوط به HCV پوشش داده شده‌اند. در هنگام آزمایش، پس از افزودن سرم، در صورت وجود آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه HCV (IgM-IgG)، آنتی‌بادی‌ها از طریق Fab به آنتی‌ژن‌های کف چاهک متصل می‌شوند. پس از انکوباسیون و شستشو، محلول آنزیم کونژوگه که حاوی آنتی‌هیومن آنتی‌بادی نشان‌دار شده با آنزیم HRP می‌باشد به چاهک‌ها اضافه می‌شود. آنتی‌هیومن آنتی‌بادی کونژوگه به صورت اختصاصی به قسمت Fc آنتی‌بادی‌های متصل شده به آنتی‌ژن‌های کف چاهک، اتصال یافته و ایجاد کمپلکس می‌نماید. پس از انکوباسیون و شستشو، محلول سوبسترا و کروموژن به چاهک‌ها اضافه می‌شود. رنگ آبی ایجاد شده بعد از این مرحله نتیجه تجزیه سوبسترا در اثر فعالیت آنزیم و تغییر رنگ محلول کروموژن ناشی از این واکنش است. شدت این رنگ متناسب با تعداد کمپلکس‌های ایمنی ایجاد شده در چاهک‌ها می‌باشد. با افزودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود که بهترین جذب نوری را در طول موج 450 nm دارد.

محتویات کیت:

۱) پلیت حاوی چاهک‌های پوشش داده شده با آنتی‌ژن‌های اختصاصی HCV.
۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): ویال حاوی محلول کونژوگه غلیظ (20X) دارای مونوکلونال آنتی‌هیومن IgG و IgM نشان‌دار شده با پراکسیداز در محلول بافری حاوی پروتئین و نگهدارنده. این محلول را باید قبل از مصرف، با محلول رقیق کننده کونژوگه به نسبت ۱:۲۰ رقیق نمود.
۳) محلول رقیق‌کننده کونژوگه (Conjugate Diluent): ویال حاوی محلول بافری سبز رنگ، دارای پروتئین به عنوان پایدار کننده و ۰/۰۵ ٪ کاتن به عنوان ماده محافظ.
۴) محلول رقیق‌کننده نمونه (Sample Diluent): ویال حاوی محلول بافری قرمز رنگ، دارای پروتئین به عنوان پایدار کننده و ۰/۰۵ ٪ کاتن به عنوان ماده محافظ و Tween 0.02%، به منظور رقیق سازی سرم‌ها.
۵) سرم کنترل مثبت (Positive Control): ویال حاوی محلول بافری قرمزرنگ، دارای پروتئین به عنوان پایدار کننده و ۰/۰۵ ٪ کاتن به عنوان ماده محافظ و سرم انسانی غیر فعال شده، حاوی آنتی‌بادی علیه HCV.
۶) سرم کنترل منفی (Negative Control): ویال حاوی محلول زرد رنگ بافر فسفات و ۰/۰۵ ٪ کاتن به عنوان ماده محافظ و سرم انسانی منفی از نظر آنتی‌بادی HCV.
۷) محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای (Chromogen-Substrate): ویال حاوی تترا متیل بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده برای مصرف).
۸) محلول شستشو (Wash Solution): یک ویال حاوی حلول شستشوی غلیظ (20X). حاوی محلول بافر فسفات و Tween 0.05% . به‌منظور تهیه محلول شستشوی آماده مصرف مقدار لازم از محلول شستشوی غلیظ را به نسبت ۱:۲۰ با آب مقطر رقیق کنید.
۹) محلول متوقف کننده (Stop Solution): یک ویال حاوی اسید کلریدریک ۱ نرمال.
۱۰) برچسب مخصوص پلیت.
۱۱) دفترچه راهنمای محصول.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی‌باشند:

۱) دستگاه الایزا ریدر (ELISA Reader) دارای فیلتر 450 nm (و در صورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس).
۲) سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر دقیق.
۳) محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ یا محلول ضد عفونی کننده دیگر.
۴) انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد.
۵) آب مقطر.

نکات قابل ذکر برای مصرف‌کنندگان:

۱) محتویات این کیت فقط برای مصرف در همین کیت می‌باشد.
۲) این کیت صرفاً برای اندازه‌گیری HCV Antibody در سرم و پلاسمای انسانی طراحی و ساخته شده است.
۳) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف جداً خوداری نمایید.
۴) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg و آنتی‌بادی‌های ضد HIV کنترل گردیده و فاقد این عوامل می‌باشند (کنترل مثبت کیت حاوی آنتی بادیهای HCV است و از نظرآنتی ژن HCV غیر فعال شده است. غیرفعال‌سازی سرم یا پلاسما به مدت نیم ساعت در ۵۶ درجه سانتی‌گراد انجام گرفته است). به منظور احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می‌کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند.
۵) هنگام انجام آزمایش حتماً از دستکش‌های یکبار مصرف استفاده کنید. همچنین استفاده از عینک‌های آزمایشگاهی هنگام کار با سرم‌های بیماران توصیه می‌شود.
۶) سرم‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی‌های ضد HCV، وسایل و محلول‌های شستشوی مشکوک به آلودگی را بعد از اتمام کار حداقل به مدت ۳۰ دقیقه درون محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد یا محلول‌های مناسب ضد عفونی کننده دیگر قرار دهید. همچنین اتوکلاو کردن، به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد پیشنهاد می‌گردد.
۷) نمونه بیماران، استانداردها، کنترل‌ها وچاهک‌های استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمامی محلول‌های واکنش‌گر و معرف‌ها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحا شوند.

هشدار توصیه‌ای: از این کیت فقط در مقاصد تشخیصی استفاده شود. این کیت برای مقاصد غربالگری تولید نشده است.

شرایط نگهداری:

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمایید.
۲) چاهک‌ها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نم‌گیر نگهداری نمایید. پایداری پلیت بعد از باز کردن کیسه آن ۴ ماه می‌باشد.
۳) پایداری محتویات کیت (قبل از باز شدن درب کیت) تا پایان مدت انقضای نوشته شده بر روی هر یک از آن‌ها می‌باشد.
۴) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱:۲۰ با آب مقطر رقیق شده باشد، به مدت یک هفته در شرایط ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

جمع آوری و آماده‌سازی نمونه:

سرم و یا پلاسمای دارای EDTA را می‌توان پس از جدا نمودن از سلول‌های خون استفاده نمود، اما از سرم یا پلاسمای رقیق شده یا Pooled با نمونه‌های دیگر نباید استفاده کرد. نمونه را می‌توان به مدت یک هفته در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و یا برای مدت زمان طولانی‌تر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود (در ضمن باید از ذوب و انجماد مکرر نمونه پرهیز شود). از نمونه‌های مشکوک به آلودگی میکروبی برای انجام آزمایش استفاده نشود.

توضیحات عمومی:

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش، تمام مواد و نمونه‌ها را به درجه حرارت اتاق برسانید. به منظور ماندگاری بهتر پلیت، مانند سایر اجزاء کیت، پلیت را بعد از رسیدن به دمای محیط از کیسه مخصوص آن خارج کرده و چاهک‌های مورد نیاز را بردارید.
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 متوقف‌کننده، جذب نوری چاهک‌ها حداکثر تا نیم ساعت قابل اندازه‌گیری می‌باشد.
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک‌ها به صورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهک‌ها تخلیه شوند.
۶) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب، زمان انکوباسیون مناسب می‌باشد، بنابراین پیشنهاد می‌گردد 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 مطلوب‌تری می‌شود.
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه‌ها بیش از ۵ دقیقه به طول نیانجامد.
۸) شستشوی صحیح با مقدار مناسب بافر شستشو برای حصول نتایج قابل اعتماد بسیار ضروری است.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

تهیه محلول کونژوگه آماده مصرف:

بر اساس جدول ۱ و بر حسب نیاز، کونژوگه غلیظ را با محلول رقیق کننده کونژوگه به نسبت ۱:۲۰ رقیق نموده و به آرامی مخلوط کنید.

جدول ۱ – مقادیر لازم برای تهیه‌ی رقت‌های کونژوگه.

تعداد استریپ‌ها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
حجم رقیق کننده کونژوگه (ml)	۰/۹۵	۱/۹	۲/۸۵	۳/۸	۴/۷۵	۵/۷	۶/۶۵	۷/۶	۸/۵۵	۹/۵	۱۰/۴۵	۱۱/۴
حجم کونژوگه غلیظ (ml)	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲۵	۰/۳	۰/۳۵	۰/۴	۰/۴۵	۰/۵	۰/۵۵	۰/۶

مراحل انجام آزمایش:

۱) تعداد چاهک‌های مورد نظر را انتخاب نموده و سایر چاهک‌ها را به همراه نم‌گیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید. چاهک اول را به عنوان بلانک انتخاب نموده و در ادامه دو چاهک برای کنترل منفی و یک چاهک برای کنترل مثبت در نظر بگیرید.

۲) ۲۰۰ میکرولیتر از سرم کنترل مثبت و۲۰۰ میکرولیتر از سرم کنترل منفی را به چاهک‌های مورد نظر اضافه نمایید.

۳) ۲۰۰ میکرولیتر محلول رقیق‌کننده نمونه (Sample Diluent) را به همه چاهک‌ها بجز چاهک‌های بلانک، کنترل مثبت و کنترل منفی اضافه نمایید.

۴) ۱۰ میکرولیتر از سرم‌ها را به چاهک‌های مورد نظر اضافه نمایید.

۵) چاهک‌ها را به مدت ۱۵ ثانیه به ملایمت تکان دهید و درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید وسپس به مدت ۶۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه نمایید.

۶) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید. برای شستشو، چنانچه دستگاه شستشوی اتوماتیک در دسترس نباشد، می‌توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود؛ ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود، زیرا می‌تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک‌ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید. در انتهای عملیات شستشو، چاهک‌ها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نم‌گیر بکوبید تا قطرات اضافی خارج شوند.

۷) ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه آماده مصرف (روش آماده نمودن کونژوگه قبلا ذکر شده) را به داخل کلیه چاهک‌ها به استثناء چاهک بلانک اضافه نمایید.

۸) پس از پوشاندن چاهک‌ها توسط بر چسب مخصوص پلیت، چاهک‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه نمایید.

۹) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (همانند بند ۶).

۱۰) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا – سوبسترا (Chromogen-Substrate) را به چاهک‌ها اضافه کرده و بمدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه نمایید.

۱۱) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک، ادامه واکنش‌های آنزیمی را متوقف نمایید. برای سنجش جذب نوری هر چاهک از دستگاه الایزا ریدر با فیلتر 450 nm استفاده نمایید (توصیه می‌شود از فیلتر 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد).

ارزشیابی آزمایش:

این آزمایش با داشتن شرایط زیر ارزشمند و قابل گزارش تلقی می‌گردد:

۱) جذب نوری کمتر از ۰/۱ برای بلانک؛ در صورت بیشتر بودن جذب نوری بلانک احتمالاً محلول رنگزا آلوده شده است.

۲) میانگین جذب نوری کمتر از ۰/۱۵ برای کنترل منفی؛ در صورت بیشتر بودن این جذب نوری، احتمالاً شستشو به طور صحیح صورت نگرفته است، آزمایش را دوباره انجام داده و در مراحل شستشو دقت کنید.

۳) میانگین جذب نوری بیشتر از ۰/۸ برای کنترل مثبت؛ در صورت کمتر بودن جذب نوری به تاریخ انقضاء کیت توجه نمایید.

محاسبه نتایج:

از هر دستگاه الایزا ریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج 450 nm می‌توان استفاده نمود.

۱) جذب نوری استانداردها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس 630 nm) بخوانید.

۲) به منظور محاسبه Cut-off از فرمول زیر استفاده نمایید (جذب نوری بلانک را باید از جذب نوری همه نمونه‌ها و کنترل‌ها کم نمود).

Cut-off Value = میانگین جذب نوری کنترل‌های منفی + 0.2

برای تعیین جواب‌های مثبت و منفی می‌توان از محاسبه اندکس S/Co نیز استفاده کرد.

به منظور به دست آوردن اندکس S/Co از فرمول $\frac{\text{Sample OD}}{\text{Cut-off Value}}$ استفاده نمایید. مطابق این فرمول کلیه جواب‌هایی که S/Co آن‌ها عدد ۱ و یا بیشتر از یک باشد، مثبت و کلیه جواب‌هایی که S/Co آن‌ها کمتر از ۱ باشد، منفی تلقی می‌شوند.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

بررسی نتایج:

۱) جواب منفی نشان‌دهنده عدم وجود آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های HCV و یا غیر قابل سنجش بودن آنتی‌بادی(در مراحل اولیه عفونت) علیه آنتی‌ژن‌های HCV می‌باشد.

۲) جواب‌های مثبت باید مجدداً تکرار شوند. نمونه‌های مثبتی که در تکرار مجدد منفی می‌شوند، باید منفی گزارش گردند. مثبت شدن آزمایش در مرتبه اول می‌تواند به علت خطای کاری در شستشو یا نمونه‌برداری باشد. در صورت مثبت شدن آزمایش در مرحله تکرار آن، نمونه بایستی با روش‌های تاییدی مانند وسترن بلات (Western Blot) یا PCR مورد ارزیابی مجدد قرار گیرد.

شاخص‌های اجرایی:

۱) حساسیت:

به منظور بررسی حساسیت کیت ، پنل‌های BBI مورد ارزیابی قرار گرفت. این پنل‌ها عبارتند از:

الف) Seroconversion Panels:

نتایج آزمایش بر روی این پنل‌ها در جداول ۲ تا ۶ آماده است.

جدول ۲ – BBI PHV 914.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 FDA Li. (S/Co)
1	0.0	0.0
2	0.0	0.0
3	0.0	0.0
4	0.2	0.0
5	0.6	0.2
6	0.8	0.3
7	2.3	3.2
8	2.5	>4.7
9	3.1	>4.7

جدول ۳ – BBI PHV 901.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 int. (S/Co)
1	0.5	0.0
2	0.3	0.0
3	4.9	5.9
4	3.8	6
5	4.4	6.1
6	3.9	6
7	5.8	>9.1
8	5.1	7.4
9	5.6	>9.1
10	4.9	9.1
11	5.3	>9.1

جدول ٤ – BBI PHV 907.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 int. (S/Co)
1	0.3	0.0
2	0.2	0.0
3	0.2	0.0
4	1.3	0.1
5	3.3	0.4
6	3.2	1.0
7	3.7	4.4

جدول ٥ – BBI PHV 909.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 SAVe. (S/Co)
1	0.2	0.0
2	1.2	1.3
3	1.1	1.3

جدول ٦ – BBI PHV 908.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 FDA Li. (S/Co)
1	0.0	0.0
2	0.2	0.0
3	0.2	0.0
4	1.8	0.1
5	2.7	0.3
6	5.4	1.7
7	6.8	4.9
8	7.6	4.9
9	9.2	>5
10	9.8	>5
11	9.8	>5
12	10.9	>5
13	10.2	>5

ب) World Wide HCV Antibody Performance (WWHV301) Panel:

این پنل حاوی۲۰ نمونه بود که از این تعداد، ۱۸ نمونه از نظر HCV Antibody مثبت و ۲ نمونه از نظر HCV Antibody منفی بودند که توسط این کیت نیز نتایج مشابهی به دست آمد (جدول ۷).

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

جدول ۷ – نتایج تست با پنل WWHV301.

Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 int. (S/Co)	Sample ID	PT HCV KIT (S/Co)	Ortho 3.0 int. (S/Co)
1	5.8	>5.0	11	1.8	>5.0
2	5.9	>5.0	12	5.5	>5.0
3	5.8	>5.0	13	5.2	>5.0
4	5.8	>5.0	14	6	>5.0
5	0.1	0.0	15	3.9	>5.0
6	4	>5.0	16	3.9	>5.0
7	1.5	>5.0	17	2.5	>5.0
8	0.3	0.1	18	3.3	>5.0
9	3.8	>5.0	19	1.6	>5.0
10	5.4	>5.0	20	2	>5.0

همچنین تعداد ۹۷ عدد نمونه مثبت، تایید شده توسط روش Western Blot با این کیت نیز آزمایش شدند که همگی مثبت بودند. با توجه به نتایج بدست آمده حساسیت کیت فوق به منظور اندازه‌گیری آنتی‌بادی علیه HCV، ۱۰۰ درصد بوده و با کیت‌ها و روش‌های تاییدی معتبر قابل مقایسه می‌باشد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP12-A2 انجام شده است.

۲) اختصاصیت:

به‌منظور بررسی اختصاصیت کیت تعداد ۲۰۰۰ نمونه سرم و پلاسما به صورت تصادفی با کیت فوق آزمایش شدند، که از این تعداد ۵ مورد مثبت بودند. این ۵ نمونه مجدداً با کیت تکرار شدند که از نتایج بدست آمده ۳ مورد مثبت بودند و ۲ نمونه در تکرار مجدد منفی شدند. بر اساس نتایج بدست آمده اختصاصیت کیت در حدود ۱۰۰–۹۹/۵ درصد (با حدود اطمینان ۹۵ درصد) می‌باشد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP12-A2 انجام شده است.

۳) تداخلات:

تعدادی نمونه سرم از نظر وجود آنتی‌بادی‌های HIV، ANA و RF و همچنین بررسی شرایط همولیز و لیپمی با کیت آزمایش شدند. این مطالعه با استفاده از راهنمای CLSI EP07-A2 و CLSI EP14-A3 انجام شد و نتایج آن در جدول ۸ آمده است.

جدول ۸ – نتایج تست تداخل.

نوع سرم آزمایش شده	تعداد سرم آزمایش شده	نتیجه بدست آمده
ANA Positive	۱۴	منفی
Anti-HIV Positive	۳۱	منفی
RF Positive	۱۵	منفی
سرم همولیز	۸	منفی
سرم لیپمیک	۷	منفی

۴) دقت آزمایش:

به منظور بررسی تکرارپذیری کیت، آزمون‌های دقت درون‌سنجی (در یک کیت) و میان‌سنجی (بین چند کیت از یک سری ساخت) به وسیله کنترل منفی و مثبت و یک نمونه سرمی مثبت انجام شد که نتایج آن در جداول ۹ و ۱۰ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP05-A3 انجام شده است.

جدول ۹– نتایج Intra Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین جذب نوری	SD	CV%
کنترل مثبت	۲۰	۱/۶۸	۰/۰۲۶	۱/۵۵
کنترل منفی	۲۰	۰/۰۶	۰/۰۰۷	۱۱/۷
نمونه مثبت	۲۰	۰/۳۱	۰/۰۱۴	۴/۵۲

جدول ۱۰ – نتایج Inter Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین جذب نوری	SD	CV%
کنترل مثبت	۱۰	۱/۷۳	۰/۰۵	۲/۹
کنترل منفی	۱۰	۰/۰۵	۰/۰۰۶	۱۲
نمونه مثبت	۱۰	۰/۳۱	۰/۰۱	۳/۲

* هر سری آزمایش، به صورت داپلیکیت انجام شده است.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zanjan

منابع:

- Guidelines for Laboratory Testing and Result Reporting of Antibody to Hepatitis C Virus: Centers for Disease Control and Prevention .MMWR 2003; 52 (No.RR-3). (https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5203a1.htm)
- Evaluation of a Rapid Assay as an Alternative to Conventional Enzyme Immunoassay for detection of Hepatitis C Virus-Specific Antibody. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43:1977-1978. (https://doi.org/10.1128/jcm.43.4.1977-1978.2005)
- Are the Real HCV Infection Features in Iranian Patients the Same As What Is Expected? Hepatitis Monthly 2005; 5:3-5. (https://www.researchgate.net/publication/26457899_Are_the_Real_HCV_Infection_Features_in_Iranian_Patients_the_Same_As_What_Is_Expected)
- Significance of Indeterminate Third-Generation Hepatitis C Virus Recombinant Immunoblot Assay. Journal of Clinical Microbiology 1996; 34:80-83. (https://doi.org/10.1128/jcm.34.1.80-83.1996)
- Development of Simple and Highly Sensitive Enzyme Immunoassay for Hepatitis C Virus Core Antigen. Journal of Clinical Microbiology 1999; 37:1802-1808. (https://doi.org/10.1128/jcm.37.6.1802-1808.1999)
- Laboratory Assay for Diagnosis and Management of Hepatitis C Virus Infection. Journal of Clinical Microbiology2002; 40:4407-4412. (https://doi.org/10.1128/jcm.40.12.4407-4412.2002)
- Low-Positive Anti-Hepatitis C Virus Enzyme Immunoassay Results: An Important Predictor of Low Likelihood of Hepatitis C Infection. Clinical Chemistry 2003; 49:479-486. (https://doi.org/10.1373/49.3.479)
- Hepatitis C Virus in Iran: Epidemiology of an Emerging Infection. Arch. Iranian Med. 2005; 8:84-90. (https://www.sid.ir/EN/VEWSSID/J_pdf/86920050201.pdf)
- Genetic Heterogeneity of Hepatitis Virus and its Clinical Significance. Current Drug Targets-Inflammation & Allergy 2005; 4:47-55. (https://doi.org/10.2174/1568010053622867)

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

جدول علائم:

	Use by	تاریخ انقضاء
	Batch code	شماره سری ساخت
	Serial number	شماره سریال
	Date of manufacture	تاریخ تولید
	Catalogue number	شماره کاتالوگ
	Caution: consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولیدکننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیست
	In vitro diagnostic medical devices	فرآورده تشخیصی
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری
	Consult instructions for use	کتابچه راهنما
	Biological risks	خطرات زیستی
	Control	کنترل
	Negative control	کنترل منفی
	Positive control	کنترل مثبت

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE

HCV Ab ELISA Kit

PISHTAZTEB DIAGNOSTICS Zamtan

روش انجام آزمایش HCV Ab به صورت شماتیک

چاهک‌های کوت شده با آنتی‌ژن اختصاصی HCV			
محلول‌ها	بلانک	سرم کنترل	نمونه
کنترل‌ها	–	۲۰۰ میکرولیتر	–
محلول رقیق‌کننده نمونه	–	–	۲۰۰ میکرولیتر
نمونه	–	–	۱۰ میکرولیتر
پلیت را به آرامی برای مدت **۱۵ ثانیه** تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها به خوبی مخلوط شوند سپس دهانه چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. **۶۰ دقیقه** در دمای **۳۷ درجه سانتی‌گراد** انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهک‌ها را خالی کنید. طبق دستور شستشو **۵ بار** چاهک‌ها را بشویید.			
آنزیم کونژوگه رقیق شده	–	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. **۳۰ دقیقه** در دمای **۳۷ درجه سانتی‌گراد** انکوبه نمایید. 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 **450nm** (در صورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید. قبل از محاسبه Cut-off، OD بلانک را از تمامی ODها کسر نمایید.			

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
کنترل منفی Negative Control	1×2.5 ml	1×5 ml	1×10 ml
کنترل مثبت Positive Control	1×1.5 ml	1×3 ml	1×5 ml
محول شستشو (۲۰X) Wash Solution (20X)	1×25 ml	1×50 ml	2×50 ml
محلول آنزیم کونژوگه (۲۰X) Enzyme Conjugate (20X)	1×0.5 ml	1×1 ml	1×2 ml
محلول رقیق‌کننده کونژوگه Enzyme Diluent	1×7.5 ml	1×15 ml	1×30 ml
محلول رقیق‌کننده نمونه Sample Diluent	1×12.5 ml	1×25 ml	1×50 ml
محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای Chromogen - Substrate	1×6 ml	1×12 ml	2×12 ml
محلول متوقف‌کننده Stop Solution	1×6 ml	1×12 ml	2×12 ml
برچسب مخصوص پلیت Cardboard Sealer	1	1	2
دستورالعمل استفاده Instruction for Use	1	1	1

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم – دی ۱۴۰۴

CE