

کاربرد:

کیت SARS-CoV-2 RBD Antibody rapid test پیش‌تاز طب یک تست ایمنووکروماتوگرافی است که برای تشخیص کیفی آنتی بادی IgG ضد RBD ویروس SARS-CoV-2 در نمونه های خون، سرم، پلاسما در نظر گرفته شده است، از این کیت می توان برای شناسایی سطح آنتی بادی های IgG علیه RBD در افراد بهبود یافته از بیماری کووید-۱۹ و یا به صورت بالقوه در افراد واکسینه شده با واکسن SARS-CoV-2 استفاده نمود. این کیت فقط برای مصارف تحقیقاتی (Research Use Only) بوده و نباید به تنهایی برای موارد تشخیص بالینی مورد استفاده قرار بگیرد.

مقدمه:

کرونا ویروس (Coronaviruses (CoV) خانواده بزرگی از ویروس ها هستند که عامل طیف گسترده ای بیماری از سرماخوردگی گرفته تا بیماریهای شدیدتر مانند سندرم شدید تنفسی حاد میشوند. SARS-CoV-2 گونه جدیدی است که قبلاً در انسان دیده نشده است. کرونا ویروس ها مشترک انسان و حیوان هستند. SARS-CoV-2 یک کروناویروس است که بعنوان عامل سندرم حاد تنفسی برای اولین بار در ووهان چین در سال ۲۰۱۹ شیوع پیدا کرد. بیماران مبتلا به SARS-CoV-2 طیف وسیعی از علائم خفیف تا شدید تنفسی، تب، سرفه تنگی نفس را نشان میدهند. پروتئینهای ساختاری شامل آنتی ژن های (Spike(S), Envelope(E), Membrane(M) و Nucleocapsid (N) در ساختار این ویروس وجود دارند. تحقیقات نشان داده است، ناحیه RBD (Receptor Binding domain) آنتیژن Spike، ایمنوژن ترین آنتیژن جهت تولید آنتی بادی های مصنوعی را با قابلیت خنثی سازی می باشد که این آنتی بادی ها از اتصال ویروس به گیرنده ACE2 (Angiotensin Converting enzyme 2) در سطح سلول میزبان و ورود آن به سلول مانع می کنند. از آن جا که آنتی بادی IgG به عنوان یکی از آنتی بادی مهم با خاصیت ایمن زایی بالا شناخته می شود، کیت الایزای سنجش آنتی بادی IgG اختصاصی ناحیه RBD شرکت پیش‌تاز طب با تشخیص کیفی حضور آنتی بادی IgG علیه RBD میتواند نقش تعیین کننده ای در تشخیص وجود آنتی بادی های مذکور در سرم افراد بهبود یافته و همچنین افراد واکسینه شده داشته باشد.

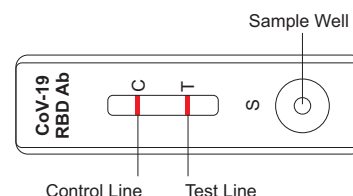
اصول تست:

تست SARS-CoV-2 RBD Antibody rapid یک تست ایمنووکروماتوگرافی است که جهت تشخیص و شناسایی آنتی بادی ضد SARS-CoV-2 RBD طراحی شده است. این تست شامل موارد زیر است:

- غشای کونزوگه یک کونزوگه شامل آنتی ژن های اختصاصی علیه RBD ویروس SARS-CoV-2 با نانوذره طلا و نیز یک کونزوگه Rabbit IgG با طلا وجود دارد.
- غشای نیتروسولوز شامل دو خط است که توسط monoclonal anti-human IgG (خط T) و Goat anti-rabbit IgG (خط کنترل C) پوشانده شده است.

وقتی که نمونه خون، سرم، پلاسما به همراه بافر در جایگاه نمونه ریخته میشود جریانی موئینگی به سمت نیتروسولوز حرکت میکند که سبب تشکیل خط تست در صورت وجود آنتی بادی ضد SARS-CoV-2 RBD در بدن میشود. همچنین یک کنترل داخلی نیز برای بررسی صحت عملکرد تست وجود دارد که شامل خط کنترل است که با تشکیل کمپلکس بین کونزوگه rabbit IgG با Anti-rabbit IgG است. عدم تشکیل این خط نشان دهنده عدم صحت تست است و بایستی با تست دیگری نمونه بیمار تکرار گردد.

محتویات کیت:



- ۱- بروشور
- ۲- اپلیکاتور
- ۳- بافر
- ۴- کاست تست
- ۵- لانتس

شرایط نگهداری و پایداری:

- ۱- بافر در دمای ۲-۳۰ درجه به مدت ۱۲ ماه پایدار است.
- ۲- پایداری تست آنتی بادی ضد SARS-CoV-2 RBD در دمای ۲-۳۰ درجه ۱۲ ماه می باشد
- ۳- جعبه حاوی بافرهای کنترل مثبت و منفی بایستی در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد قرار گیرد.
- ۴- در صورت نگهداری کیت در دمای ۲-۸ درجه بایستی قبل از استفاده از کیت آن را در دمای ۱۵-۳۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه به دما رساند.
- ۵- از فریز کردن کیت و نیز نگهداری در دمای بالای ۳۰ درجه خودداری کنید.

جمع آوری و نگهداری نمونه:

نمونه مورد نیاز شامل خون، سرم، پلاسما بیمار می باشد. برای خون تام از سر انگشت بهتر است از کنار انگشت سیبیه استفاده شود. انگشت باید با پد الکلی تمیز شده و به سمت سر انگشت چند مرتبه مالش داده شود. سپس با لنتس یکبار مصرف ارایه شده سوراخ کوچکی را ایجاد کرده و حدود ۲۰ میکرولیتر یا دو قطره خون در محفظه مشخص شده با حرف S ریخته شود. درخصوص سرم و پلاسما همان روش تهیه در آزمایشگاه مناسب است. استفاده از ضد انعقادهایی همچون (EDTA) پیشنهاد میشود. مقدار نمونه در این مرحله ۱۰ لاندای می باشد (پایداری نمونه ۷ روز در دمای یخچال است و برای نگه داری نمونه سرم برای زمان طولانی تر در فریزر منفی ۲۰ درجه نگه داری شود).

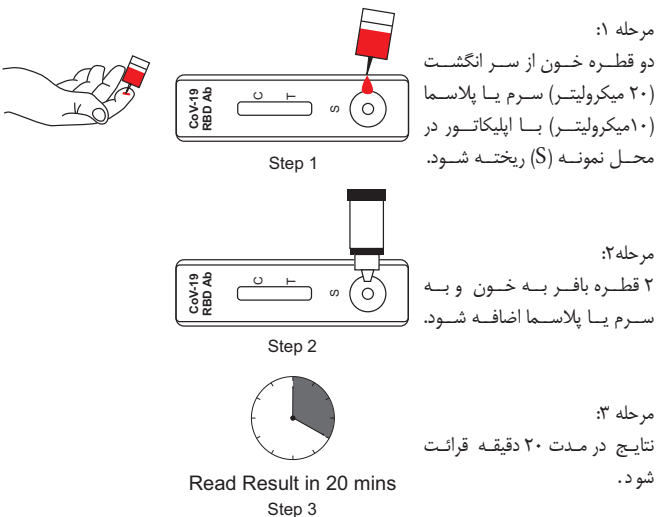
آماده سازی کیت:

قبل از شروع آزمایش می بایست موارد زیر را آماده ساخت:

- ۱- کلیه محتویات کیت را می بایست به دمای اتاق رساند.
- ۲- کاست را از داخل فویل آلومینیومی خارج کرده و در روی یک سطح صاف و بدون آلودگی قرار دهید.
- ۳- نام بیمار و یا شماره پذیرش بیمار در روی کاست نوشته شود.

مراحل انجام آزمایش:

به منظور سهولت در اجرای میدانی تست، وسایل لازم ارایه شده است. یک پاکت حاوی کاست تست را برداشته، کاست را خارج نموده و روی میز قرار دهید. با یک پد الکلی انگشت سیبیه را تمیز کرده و به سمت سر انگشت چند مرتبه مالش داده شود. سپس با لنتس یکبار مصرف ارایه شده سوراخ کوچکی را ایجاد کرده و ۲۰ میکرولیتر (دو قطره) خون در محفظه مشخص شده با حرف S ریخته شود و با همان پد الکلی جریان خون مهار شود. سریعاً دو قطره از بافر ارایه شده به داخل حفره حاوی خون ریخته شود (پایداری بافر در دمای اتاق ۶ ماه است) نمونه باید به طرف بالا حرکت کند. در مورد نمونه سرم و پلاسما یک قطره چکان ارایه شده که با استفاده از آن تا مقدار یک قطره یا ۱۰ میکرولیتر برداشته و به حفره نمونه اضافه شود و سپس ۲ قطره بافر به همان حفره اضافه شود.



آنالیت مداخله گر	غلظت آنالیت مداخله گر	قبل از اضافه کردن مداخله گر	پس از اضافه کردن مداخله گر
هموگلوبین	1 mg/ml	+	+
تری گلیسرید	3000 mg/dL	+	+
بیلی روبین	20 mg/dL	+	+

هشدارها :

- برای انجام صحیح تست بایستی قبل از انجام بروشور بطور کامل مورد مطالعه قرار بگیرد.
- تست بایستی نهایتاً ۲۰ دقیقه خوانده شود و زمان بیشتر و کمتر سبب نتایج غلط و اشتباه در تفسیر خواهد شد.
- تا زمانیکه نیاز نیست کاست نباید از داخل فویل آلومینیومی بیرون آورده شود. در زمان حداکثر پس از ۲ ساعت از خروج کاست بایستی تست انجام شود. در غیر اینصورت کاست قابل استفاده نخواهد بود.
- کیت پس از تاریخ انقضاء مورد استفاده قرار نگیرد.
- کیت و محتویات آن پس از رسیدن به دمای اتاق استفاده گردند.
- کیت استفاده شده را در داخل ظرف زباله مخصوص مواد آزمایشگاهی قرار دهید.

محدودیت های تست :

۱. این تست یک نتیجه ی کیفی را از پاسخ سیستم ایمنی علیه بخشی از ویروس را فراهم می کند.
۲. امکان دارد که روش نادرست کار یا اشتباه تکنیکی ، منجر به نتیجه ی کاذب شود.
۳. نتیجه ی مثبت بیانگر وجود آنتی بادی IgG می باشد. اما صرفاً نشان دهنده ی مصونیت درمقابل بیماری کووید ۱۹ نیست.
۴. با وجود ویژگی مناسب این کیت، نتیجه مثبت کاذب آنتی بادی IgG ممکن است مربوط به واکنش متقاطع با آنتی بادی های از قبل تولید شده و یا دیگر عوامل رخ دهد. نتایج مثبت این کیت باید قبل از تصمیم گیری در مورد نتیجه آزمایش با یافته های بالینی انطباق داده شود.

	Use by	تاریخ انقضاء
	Batch code	شماره سری ساخت
	Date of manufacture	تاریخ تولید
	Catalog number	شماره کاتالوگ
	Caution, consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولید کننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیسیت
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری



شرکت دانش بنیان
پیش‌تاز زب

تهران ، شهرک گلستان ، بلوار گلها ، خیابان یاس سوم ، نیش خیابان یاسمن ، پلاک ۱
کدپستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳ تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazzeb.com info@pishtazzeb.com sms۳۰۰۷۱۴۰۲

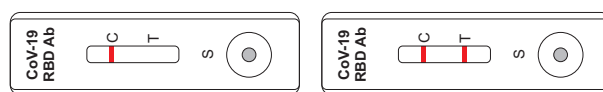


این تست شامل کنترل کیفی داخلی است که شامل خط کنترل میباشد. در هنگامیکه تست انجام میشود در صورتیکه تست بصورت صحیحی عمل کند خط کنترل (C) تشکیل میگردد. در صورتیکه خطی تشکیل نشود به این معنا است که تست عملکرد صحیحی ندارد و بایستی مجدداً تکرار شود.

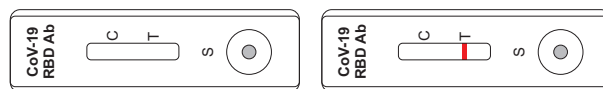
تفسیر نتایج :

- ۱- در صورتیکه در یک تست فقط خط کنترل (C) تشکیل شود نشاندهنده منفی بودن تست می باشد.
- ۲- در صورتیکه در یک تست علاوه بر خط کنترل (C) خط T نیز تشکیل شود به این معناست که در نمونه بیمار آنتی بادی ضد SARS-CoV-2 وجود دارد و نشان دهنده مثبت بودن تست می باشد.
- ۳- عدم تشکیل خط کنترل در هر شرایطی به معنی عدم اعتبار (Invalid) تست است و قابل تفسیر نمیباشد و بایستی با یک تست دیگر نمونه تکرار شود.

نتایج معتبر (تشکیل خط کنترل)



نتایج غیر معتبر (عدم تشکیل خط کنترل)



ارزیابی شاخص های اجرایی کیت :

۱- اختصاصیت و حساسیت بالینی:

برای تعیین حساسیت بالینی کیت تعداد ۱۰۰ عدد نمونه از افرادی که دو دوز واکسن علیه کووید-۱۹ دریافت کرده بودند جمع آوری شد. همچنین تعداد ۱۰۰ عدد سرم منفی اخذ شده مربوط به دو سال قبل از پاندمی کووید-۱۹ که در شرایط مناسب نگهداری شده بود آزمایش شدند. از تعداد ۱۰۰ عدد نمونه مثبت واکسینه شده تعداد ۹۸ عدد با این کیت مثبت شد و تعداد ۲ نفر نیز منفی شدن دو حساسیت بالینی این کیت ۹۸ درصد شد. از تعداد ۱۰۰ عدد نمونه منفی نیز ۱۰۰ نمونه منفی شدند و اختصاصیت بالینی ۱۰۰ گزارش شد.

نتایج	نمونه های بالینی واکسینه و غیر واکسینه		کل نتایج
	Positive	Negative	
Positive	۹۸	۲	۱۰۰
Negative	-	۱۰۰	۱۰۰
نتایج نهایی	۹۸	۱۰۲	۲۰۰

Total Positive Percent Agreement (PPA)= (98%),

Negative Percent Agreement (NPA)= 100/100 (100.0%),

۲- بررسی واکنش متقاطع:

واکنش متقاطع سرمی با سرم های مثبت از نظر آنتی بادی ضد نوکئوکسپید SARS-CoV-2 که فاقد آنتی بادی ضد آنتی ژن S این ویروس بودند (تعداد= ۵) و آنتی بادی های علیه HCV (تعداد= ۱۰)، HBV (تعداد= ۱۰) و HIV (تعداد= ۱۰) مشاهده نشد.

۳- تداخل:

جهت بررسی تداخل کیت به یک نمونه سرم مقادیر زیر از عوامل مداخله گر هموگلوبین، تری گلیسرید و بیلی روبین اضافه و تغییرات نمونه در قبل و بعد از افزودن عوامل مداخله گر مشاهده شد و نتایج جدول زیر بدست آمد.