ChemoBind

کیت تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD به روش الایزا

کاربرد:

کیت تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD کموباند، یک روش ایمنواسی متصل به آنزیم است که به منظور تشخیص نیمه کمی آنتی‌بادی‌های IgG علیه SARS-CoV-2 RBD در سرم یا پلاسما (EDTA دار، هپارینه یا سیتراته) استفاده می‌شود. استفاده از آزمون الایزا (in vitro) بجای آزمون‌های خنثی سازی مبتنی بر کشت ویروس، به لحاظ توان عملیاتی، هزینه و مقیاس به کارگیری بسیار حائز اهمیت هستند. کیت تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD (آنتی‌بادی خنثی کننده) کموباند، قادر به تشخیص آنتی‌بادی‌هایی است که واکنش RBD/ACE-2 را مهار می‌کنند و به عنوان یک ابزار کمکی در شناسایی افراد دارای پاسخ ایمنی اکتسابی علیه SARS-CoV-2 RBD که نشان دهنده عفونت اخیر یا قبلی است به کار می رود. برای تشخیص عفونت حاد SARS-CoV-2 نباید از کیت تشخیص آنتی بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD استفاده شود.

مقدمه:

ویروس SARS-CoV-2 یک RNA ویروس با سنس مثبت است که منجر به بیماری مسری کوید ۱۹ (سندرم حاد تنفسی) در انسان می‌شود. بر خلاف ویروس SARS-CoV، که برای اولین بار در سال ۲۰۰۳ گزارش شد، SARS-CoV-2 در دسامبر ۲۰۱۹ در ووهان چین شناسایی و به طور وسیعی گسترش یافت و تنها ۱۱ماه پس از شناسایی، منجر به مرگ بیش از ۱/۳ میلیون نفر شده است. (۴-۱). ویروس SARS-CoV-2 دارای چندین پروتئین ساختاری از جمله spike (S)، پوششی (E)، غشا (M) و نوکلئوکپسید (N) می باشد. پروتئین S شامل دو سابیونیت S1 و S2 است. دومن متصل شونده به گیرنده (RBD) در سابیونیت S1 به گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2) در

سطح سلول‌های میزبان متصل شده و موجب ورود ویروس به سلول هدف می‌شود. بنابراین پروتئین S بویژه بخش RBD ویروس دارای ویژگی ایمونوژنسیته بسیار بالایی است (۵, ۶). عفونت با SARS-CoV-2 منجر به شروع پاسخ ایمنی و تولید آنتی‌بادی از کلاس IgA، IgM و IgG بر علیه پروتئین‌های ویروس می‌شود. آنتی‌بادی‌های IgG که بر علیه پروتئین RBD ویروس تولید می‌شوند اخیرا آنتی‌بادی خنثی کننده (Neutralizing Antibodies) نیز نامیده می‌شوند. این آنتی‌بادی‌ها میتوانند تا ماهها پس از عفونت اولیه در گردش خون باقی مانده و با اتصال به RBD ویروس مانع واکنش RBD-ACE2 شوند و از ورود ویروس به سلول و تکثیر آن جلوگیری کنند (۶, ۷). کیت تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD کموباند میتواند آنتی‌بادی‌های IgG علیه SARS-CoV-2 RBD در سرم یا پلاسمای بیماران بهبود یافته، مبتلایان بدون علامت یا با علایم خفیف را شناسایی کند. همچنین، این کیت میتواند در نشان دادن اثربخشی واکسن‌هایی که بر علیه RBD ویروس ساخته شده‌اند، موثر باشد.

اساس آزمایش:

این کیت بر اساس آزمون الایزای غیر مستقیم (Indirect ELISA) طراحی شده و چاهک‌های پلیت با قسمت RBD آنتی ژن (Spike S) پوشانده شده است. حین آزمایش، نمونه‌ها در داخل چاهک‌ها رقیق و انکوبه می‌شوند. در طی انکوباسیون، تمام آنتی‌بادی‌های IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD موجود در نمونه سرم به آنتی‌ژن کف چاهک متصل می‌شوند. سپس پلیت‌ها به منظور خارج کردن آنتی‌بادی‌های باند نشده شستشو داده می‌شوند. در مرحله بعد، آنتی‌بادی IgG ضد انسانی (Secondary Ab) که با آنزیم HRP کونژوگه شده است، اضافه و انکوبه می‌شود. سپس،

چاهک‌ها کاملا شسته می‌شوند تا تمام HRP کونژوگه باند نشده خارج گردد و محلول رنگ‌زا (تترامتیل بنزیدین) به داخل چاهک‌ها افزوده می‌شود. محلول رنگ‌زا به منظور نشان دادن واکنش آنزیمیHRP استفاده می‌شود. محلول رنگ‌زا توسط HRP کاتالیز شده و محصول آبی رنگ ایجاد می‌کند که پس از افزودن محلول متوقف کننده به رنگ زرد تبدیل می‌شود.

محتویات کیت:

۱. میکروپلیت ۹۶ خانه که با SRBD پوشش داده شده است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی گراد نگهداری شود.
۲. سرم کنترل منفی (Negative Control): یک ویال حاوی سرم انسانی غیرفعال شده و منفی از نظر آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD که در بافر رقیق کننده، رقیق شده است. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.
۳. سرم کنترل مثبت (Positive Control): یک ویال حاوی سرم انسانی غیرفعال شده و مثبت از نظر آنتی بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD که در بافر رقیق کننده، رقیق شده است. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.
۴. بافر رقیق کننده (Sample Diluent buffer): یک ویال حاوی محلول بافری برای رقیق کردن نمونه. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.
۵. آنزیم کونژوگه(Enzyme Conjugate): یک ویال حاوی محلول IgG ضد انسانی که با آنزیم HRP کونژوگه شده است. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.
۶. محلول رنگ‌زای TMB (Chromogen/Substrate): یک ویال حاوی محلول تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

۷. محلول متوقف کننده (Stop Solution): یک ویال حاوی محلول اسیدکلریدریک ۱ نرمال. این محلول آماده مصرف است. در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.
۸. محلول شستشو (Wash Solution): یک ویال حاوی بافر فسفات سالین و توئین ۰.۰۵٪ غلیظ (۱۰X)
۹. برچسب مخصوص پلیت: دو برچسب برای پوشاندن پلیت.

نگهداری و پایداری:

کیت باید در دمای بین ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. از فریز کردن کیت خودداری کنید. تمام محتویات کیت آزمایش که باز نشده است تا پایان تاریخ انقضای کیت پایدار هستند.

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان:

۱. از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف خودداری کنید. کنترل‌ها، آنزیم کونژوگه و میکروپلیت تنها برای مصرف در همین کیت قابل استفاده هستند.
۲. قبل از شروع مراحل آزمایش، تمام مواد و نمونه‌ها را به درجه حرارت اتاق برسانید. به منظور ذوب کردن نمونه‌ها یا معرف‌ها از حمام آب گرم (بن‌ماری) استفاده نکنید.
۳. از مواد کیت که تاریخ انقضای آن به پایان رسیده، استفاده نکنید.
۴. از خارج کردن میکروپلیت از کیسه مخصوص نگهداری پلیت تا قبل از انجام آزمایش خودداری کنید. استریپ‌ها یا چاهک‌های اضافه و استفاده نشده را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد نگهداری نمائید.
۵. برای جلوگیری از آلودگی از نوک سمپلر یکبار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید.

۶. چنانچه معرف‌ها از نظر ظاهری خراب شده‌اند، از آن کیت استفاده نکنید.
۷. قبل از استفاده از کیت، دستورالعمل استفاده را با دقت بخوانید. فقط از نسخه معتبر ارائه شده با محصول استفاده کنید.
۸. حجم پیپتینگ، زمان انکوباسیون، دما و مراحل آماده سازی ارائه شده در دستورالعمل استفاده از کیت باید رعایت شود.
۹. اقدامات آزمایشگاهی مناسب و دستورالعمل‌های ایمنی را رعایت کنید. محلول متوقف کننده حاوی HCl است. برخی از معرف‌ها حاوی مواد نگهدارنده با غلظت‌های غیرقابل گزارش هستند. از تماس چشم و پوست با نمونه‌ها و معرف‌ها خودداری کنید. در صورت تماس چشم و پوست، با مقادیر زیادی آب شستشو دهید.
۱۰. کنترل‌های موجود در کیت که منشا سرمی دارند از نظر وجود عوامل عفونی نظیر Anti-HCV، HBs-Ag و Anti-HIV کنترل گردیده و فاقد این عوامل می‌باشند. با این وجود، کلیه معرف‌ها باید به عنوان عوامل عفونی قابل انتقال بیماری و بالقوه خطرناک در نظر گرفته شوند و اقدامات آزمایشگاهی مناسب باید انجام شود.
۱۱. در صورت نگهداری محلول شستشوی غلیظ در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد ممکن است کریستال تشکیل شود. قبل از تهیه محلول شستشوی کار، برای حل شدن کریستال‌ها، ویال را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دهید.

جمع آوری، آماده سازی و نگهداری نمونه:

سرم: خون باید با استفاده از روش‌های استاندارد خونگیری گرفته شود و سرم را حتی الامکان بلافاصله از سلول‌های خونی جدا کنید. اجازه دهید نمونه خون به مدت یک ساعت در درجه حرارت اتاق لخته شود و سپس به مدت ۱۰ دقیقه نمونه را سانتریفیوژ کنید و سرم را جدا کنید.

پلاسما: خون باید با استفاده از روش‌های استاندارد خونگیری در لوله‌های حاوی ضد انعقاد سیترات سدیم، EDTA یا هپارین گرفته شود. به منظور اطمینان از بهبودی مطلوب و حداقل آلودگی پلاکت، پلاسما باید ظرف ۳۰ دقیقه از خونگیری جدا شود. جهت جمع‌آوری پلاسما، نمونه خون را به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

توجه: نمونه سرم یا پلاسما می‌تواند به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. در غیر این صورت جهت پایداری نمونه و جلوگیری از آلودگی نمونه، باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. از فریز-ذوب کردن (Freeze-thaw) نمونه خودداری کنید.

مراحل انجام آزمایش:

۱. قبل از شروع مراحل آزمایش، کلیه مواد و نمونه‌ها را به درجه حرارت اتاق برسانید. قبل از استفاده از معرف‌ها، آنها را به آرامی تکان دهید.

نکته: تعداد چاهک‌های مورد نظر را انتخاب کرده و سایر چاهک‌ها را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید.

۲. ۱۰۰ میکرولیتر از کنترل‌های مثبت و منفی را به چاهک‌ها اضافه کنید.

۳. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده را به چاهک‌ها اضافه کنید. سپس ۲ میکرولیتر از نمونه را در هر چاهک اضافه کنید.

۴. چاهک‌ها را توسط برچسب مخصوص پلیت پوشانده و به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار دهید.

نکته: به منظور جلوگیری از انتقال یک نمونه به نمونه دیگر، از نوک سمپلرهای یکبار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید.

۵. پس از اتمام انکوباسیون، محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشو بوسیله دستگاه شستشوی اتومات یا به روش دستی بشوئید. پس از شستشوی آخر مطمئن شوید که محلول شستشو به طور کامل از هر چاهک خارج شود.
نکته: جهت کسب نتایج مطلوب مراحل شستشوی چاهک‌ها باید به صورت کامل و درست انجام گیرد.
۶. ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیم کونژوگه آماده مصرف به همه چاهک‌ها به استثنای چاهک بلانک ریخته و با حرکت چرخشی میکروپلیت را روی سطح صاف تکان دهید. سپس با استفاده از برچسب مخصوص پلیت، چاهک‌ها را پوشانده و به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرات اتاق قرار دهید.
۷. محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشو بشوئید (همانند بند ۵).
۸. ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ‌زا به همه چاهک‌ها اضافه نمائید و به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی قرار دهید.
۹. واکنش آنزیمی را با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده به هر چاهک، متوقف کنید.
۱۰. جذب نوری هر چاهک را با استفاده از دستگاه الایزاریدر با فیلتر ۴۵۰ نانومتر قرائت نمائید. از فیلتر ۶۲۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرنس استفاده کنید. خوانش جذب نوری هر چاهک باید ظرف ۳۰ دقیقه از افزودن محلول متوقف کننده انجام گیرد.
نکته: نتایج جذب نوری هر چاهک را یادداشت کنید. همچنین، شماره ساخت کیت، تاریخ، اپراتور و هرگونه نکته در مورد انجام آزمایش را ثبت و یاداشت کنید. چناچه نسخه چاپی جذب نوری چاهک‌ها موجود است، باید به صفحه نتایج ضمیمه شود.

روش شستشو:

میکروپلیت را می‌توان به صورت دستی یا با استفاده از دستگاه واشر (شستشوی) اتومات شستشو داد. در صورت استفاده از دستگاه واشر لازم است که دستگاه با توجه به دستورالعمل‌های زیر تنظیم شود:

محتویات چاهک‌ها از استریپ اول آسپیره شود و ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته شود. تمامی استریپ‌ها همانند استریپ اول شستشو شود. این روش برای ۴ مرتبه دیگر و در کل ۵ بار تکرار شود. برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک‌ها به صورت کامل و مناسب صورت گیرد.

محاسبه نسبت وضعیت ایمونولوژیکی (ISR) نمونه:

ISR از تقسیم جذب نوری (OD) هر نمونه بر مقدار cut-off بدست می‌آید. ISR را برای هر نمونه محاسبه کنید. چنانچه نمونه‌ها به صورت دوپلیکیت آزمایش شده‌اند، جهت محاسبه ISR ابتدا میانگین جذب نوری نمونه‌ها را محاسبه و سپس بر مقدار cut-off تقسیم کنید.

$$ISR = \frac{\text{OD of the control or clinical sample}}{\text{Cut-off} = 0.22 + \text{OD of Negative control}}$$

پس از محاسبه ISR، نتایج را بر اساس جدول زیر تفسیر کنید:

ISR	Result	Interpretation
۰/۸- ۱/۱	تکرار آزمایش	هر نمونه‌ای که مقدار OD آن بین ۱/۱ -۰/۸ باشد، برای تأیید وضعیت نمونه باید به صورت دوپلیکیت همراه با کنترل‌ها مجددا آزمایش شود. چنانچه مقدار میانگین ISR حاصل از آزمایش دوپلیکیت بیشتر یا مساوی ۱ باشد، نمونه از نظر وجود آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 EBD مثبت در نظرگرفته می‌شود. اما اگر مقدار میانگین ISR حاصل از آزمایش دوپلیکیت کمتر از ۱ شد، نمونه از نظر وجود آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD منفی در نظر گرفته می‌شود.
≥ ۱/۱	مثبت	وجود آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD
≤ ۰/۸	منفی	عدم وجود مقادیر قابل تشخیص آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD

کنترل کیفی:

کنترل‌های مثبت و منفی موجود در کیت باید همراه با نمونه بیماران در هر بار آزمایش استفاده شوند. چنانچه OD مربوط به کنترلها در محدوده مورد انتظار که در جدول زیر ارائه شده است، نباشد نتایج آزمون قابل قبول نبوده و باید تکرار شوند.

	OD	Ratio
کنترل مثبت	> ۰/۸	> ۲/۱۶
کنترل منفی	< ۰/۲	< ۰ /۳۳

توجه: کنترل مثبت و منفی به منظور نظارت بر خرابی معرف‌های اساسی کیت در نظر گرفته شده است اما تضمین کننده

میزان دقت در مقادیر Cut-off نیست. ممکن است براساس دستورالعمل‌ها یا مقررات ایالتی، محلی و یا فدرال یا سازمان‌های معتبر، کنترل‌های اضافی لازم باشد (۸).

تست‌های عملکردی کیت:

دقت آزمایش: به منظور بررسی تکرارپذیری، آزمون‌های دقت درون سنجی (intra-assay) در یک پلیت از یک کیت و میان سنجی (inter assay) بین چند کیت از یک سری ساخت بوسیله سه نمونه (یک نمونه سرمی منفی، یک نمونه سرمی مثبت ضعیف و یک نمونه سرمی مثبت قوی) بر اساس دستورالعمل CLSI EP05-A3 انجام شد (۹). دقت به صورت انحراف معیار (SD) و ضریب تغییرات (CV) در جداول مربوطه ارائه شده است و ضریب تغییرات (CV) در جداول مربوطه ارائه شده است.

آزمون دقت درون سنجی:

	تعداد دفعات تکرار	میانگین جذب نوری	انحراف معیار (SD)	CV (٪)
نمونه منفی	۳۲	۰/۱۰	۰/۰۰۸	۷/۹
نمونه مثبت ضعیف	۳۲	۱/۵۲	۰/۱۱	۷/۶
نمونه مثبت قوی	۳۲	۲/۲۵	۰/۱۲	۵/۶

آزمون دقت میان سنجی:

	تعداد دفعات تکرار	میانگین جذب نوری	انحراف معیار (SD)	CV (٪)
نمونه منفی	۳۲	۱/۱۴	۰/۰۱	۷/۹
نمونه مثبت ضعیف	۳۲	۰/۸۹	۰/۰۶	۷/۳
نمونه مثبت قوی	۳۲	۲/۱	۰/۱۱	۵/۲

اختصاصیت:

ویژگی یک تست به عنوان توانایی یک تست برای پیدا کردن موارد سالم تعریف می‌شود. با توجه به اینکه عفونت SARS-CoV-2 در دسامبر ۲۰۱۹ در ووهان چین ظاهر شد. نمونه سرم ۹۳ اهداکننده داوطلب سالم ایران قبل از این تاریخ از نظر حضور آنتی‌بادی علیه SRS-CoV-2 RBD مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج اختصاصیت کیت تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD کموباند ۱۰۰٪ است.

حساسیت:

حساسیت یک تست به عنوان توانایی یک تست برای پیدا کردن موارد بیماری تعریف می‌شود (۱۰). تعداد ۵۶ نمونه سرم بیمار که توسط RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفته بودند (۳۶ نمونه مثبت و ۲۰ نمونه منفی)، از نظر حضور آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD در سرم آزمایش شدند. همانطور که در جدول مربوطه مشخص است ۳۶ نمونه از نظر آنتی‌بادیIgG علیه SARS-CoV-2 RBD مثبت و ۲۰ نمونه منفی بود. بنابراین حساست آزمایش برای کیت موجود ۱۰۰٪ است.

	تعداد موارد بیماری	تعداد موارد سالم	تعداد کل
تعداد موارد مثبت	مثبت حقیقی (۳۶)	مثبت کاذب (۰)	۳۶
تعداد موارد منفی	منفی کاذب (۰)	منفی حقیقی (۲۰)	۲۰
تعداد کل	**۳۶**	**۲۰**	**۵۶**

ارزش اخباری منفی:

به عنوان بخشی از مواردی است که تست منفی گزارش کرده و واقعا سالم هستند، تعریف می‌شود. این شاخص در واقع نسبت افرادی است که واقعا سالم هستند (۱۰). با توجه به نتایج جدول بالا، ارزش اخباری منفی برای این کیت ۱۰۰٪ است.

ارزش اخباری مثبت:

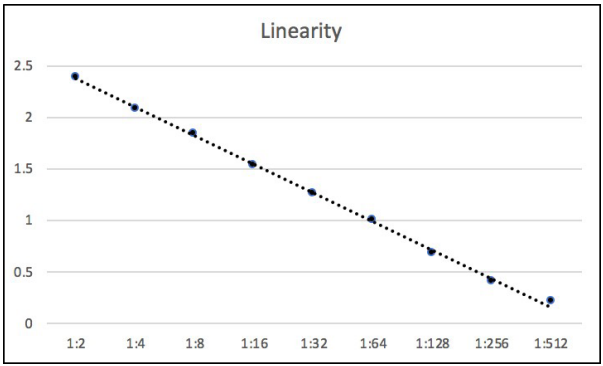
این شاخص در واقع نسبت افرادی است که واقعا دچار بیماری هستند و کیت قادر به شناسایی آنها بوده و مثبت گزارش کرده است (۱۰). با توجه به نتایج جدول ارائه شده، ارزش اخباری مثبت برای این کیت ۱۰۰٪ است.

Diagnostic test accuracy:

دقت یک آزمایش به عنوان توانایی یک تست در افتراق صحیح موارد بیمار و سالم از سایر موارد تعریف می‌شود (۱۰). از مجموع ۵۶ مورد آزمایش شده، تست قادر به تشخیص صحیح ۳۶ مورد بیمار و ۲۰ مورد سالم بوده است. لذا دقت این تست برابر است با ۱۰۰٪.

خطی بودن یک آزمایش:

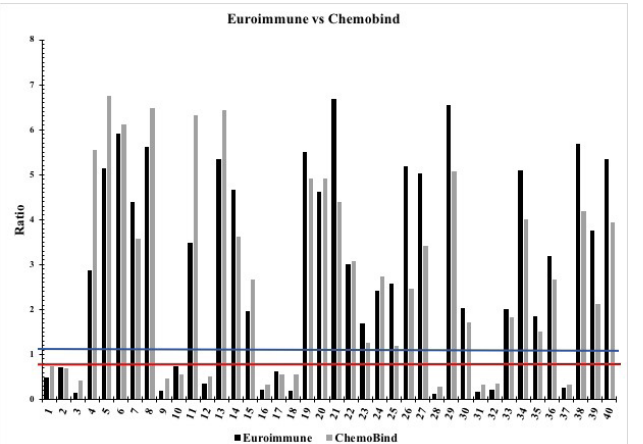
آزمایشی خطی است که مقادیر حاصله از آزمایش موردنظر روی خط مستقیم قرار گرفته و نتایج به طور مستقیم متناسب با غلظت آنالیت در نمونه تست است. آزمون خطی بودن بر اساس دستورالعمل EP-6A انجام شد (۱۱).



Dilution	OD
1:2	2.38
1:4	2.079
1:8	1.835
1:16	1.523
1:32	1.26
1:64	1.003
1:128	0.681
1:256	0.404
1:512	0.217

مقایسه بین دو روش:

به منظور مقایسه کیت کموباند با کیت دیگر، تعداد ۴۰ نمونه بیمار با دو کیت Euroimmune(PerkinElmer, Germany) و ChemoBind (Hayyan Pajouh Pars, Iran) مورد ارزیابی قرار گرفت. همانطور که در تصویر مشخص است، نتایج دو کیت کاملا مشابه است.



مقایسه نتایج کیت الایزای آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 RBD و آزمایش خنثی سازی ویروس (VNT):

نتایج ۳۲ نمونه بیمار مورد ارزیابی با کیت الایزای آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه SARS-CoV-2 کموباند و آزمون خنثی سازی ویروس مقایسه شد. بر اساس نتایج ارائه شده در جدول زیر، ارزش اخباری مثبت برای کیت کموباند ۱۰۰٪ است.

نمونه	تعداد نمونه مثبت با آزمون خنثی سازی (n=۲۲)	تعداد نمونه منفی با آزمون خنثی سازی (n=۱۰)
تعداد نمونه مثبت با کیت ChemoBind	۲۲ (٪۱۰۰)	۲ (٪۲۰)
تعداد نمونه منفی با کیت ChemoBind	۰ (٪۰)	۸ (٪۸۰)

واکنش متقاطع:

با توجه به همولوژی و شباهت کم آنتی‌ژن S در ویروسهای خانواده کرونا، واکنش متقاطع با سایر عوامل بیماریزای انسانی این خانواده ویروس عملا کنار گذاشته میشود. با این وجود، واکنش متقاطع با ویروسهای خانواده کرونا و سایر ویروسهای بیماریزای انسانی که در جدول مربوطه ارائه شده است مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از ارزیابی واکنش متقاطع در جدول مربوطه آمده است.

شماره	آزمایش	تعداد	Anti-SARS-CoV-2 RBD	
			منفی	مثبت
۱	HCV-Ab	۵	۵	۰
۲	ANA	۵	۵	۰
۳	Rheumatoid factors	۵	۵	۰
۴	Influenza A	۵	۵	۰
۵	Influenza B	۵	۵	۰
۶	Adenovirus	۲	۲	۰
۷	Respiratory Syncytial Virus (RSV)	۳	۳	۰

بررسی تداخلات (Interference):

جهت بررسی عوامل مداخله‌گر موجود در سرم مانند هموگلوبین (Hb)، تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول، آلبومین، بیلی‌روبین (Bili) کونژوگه و غیرکونژوگه با آزمایش آنتی‌بادی IgG علیه SARS-CoV-2 RBD، مقادیر مشخصی از هر یک از عوامل مداخله‌گر به سرم افزوده شد و میزان تغییرات ISR در نمونه قبل و بعد از افزودن عوامل مداخله‌گر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از عدم تغییر در مقادیر ISRپس از افزودن عوامل مداخله‌گر بود.

شماره	مداخله-گر	غلظت مورد آزمایش
۱	Albumin	60 mg/mL
۲	Bilirubin conjugated	0.4 mg/mL
۳	Bilirubin unconjugated	0.38 mg/mL
۴	Cholesterol	4 mg/mL
۵	Hemoglobin	10 mg/mL
۶	triglycerides	15 mg/ml

منابع:

1. Gralinski L, Menachery V. Return of the coronavirus: 2019-nCoV. Viruses. 2020; 12 (2): 135. 2020.
2. Wang G, Jin X. The progress of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) event in China. J Med Virol Doi.10.
3. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic testing for severe acute respiratory syndrome–related coronavirus 2: a narrative review. Annals of internal medicine. 2020;172(11):726-34.
4. Xiao SY, Wu Y, Liu H. Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. Journal of medical virology. 2020;92(5):464-7.
5. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid generation of neutralizing antibody responses in COVID-19 patients. Cell Reports Medicine. 2020;1(3):100040.
6. He Y, Zhou Y, Liu S, Kou Z, Li W, Farzan M, et al. Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces highly potent neutralizing antibodies: implication for developing subunit vaccine. Biochemical and biophysical research communications. 2004;324(2):773-81.
7. Graham NR, Whitaker AN, Strother CA, Miles AK, Grier D, McElvany BD, et al. Kinetics and Isotype Assessment of Antibodies Targeting the Spike Protein Receptor Binding Domain of SARS-CoV-2 In COVID-19 Patients as a function of Age and Biological Sex. medRxiv. 2020.
8. Ezzelle J, Rodriguez-Chavez I, Darden J, Stirewalt M, Kunwar N, Hitchcock R, et al. Guidelines on good clinical laboratory practice: bridging operations between research and clinical research laboratories. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2008;46(1):18-29.
9. Edition AG-T. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014.
10. Larry W. Clark MS, Chairholder, Patricia E. Garrett PD, Robert Martin DPH, Kristen L. Meier PD. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. 2002;22.
11. Daniel W. Tholen MS, Chairholder, Martin Kroll MD, FACB, J. Rex Astles PD, FACB, Albert L. Caffo PD, Thomas M. Happe MA, Jan Krouwer PDFL, Ph.D. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures:
A Statistical Approach; Approved Guideline. 2003.

ChemoBind

www.chemobind.com