

# HEPATITIS

HBe/Anti – HBe	1-12
HBCT	13-22
HBC Igm	23-32
HBST	33-41
HBSAg ultra	42-51
HAVT	52-61
HAV M	62-71

Hbe Ag  
 0, C ↓ ~~⊗~~

Hbe<sup>T</sup> Ab

S1  
 S1  
 C1  
 10.

1 11 81      p̄<sub>rest</sub>  
 2 4 2 1  
 3 4  
 3 4  
 C 4  
 1  
 -

HBe/Anti- HBe	تست :
ELFA (با روش ساندویچ)	روش آزمایش :
۱۵۰ لاند	حجم مکش :
HBL-HBCT-HAVT-HBET	تست های سازگار :
۹۰ دقیقه	زمان انجام آزمایش :
duplicate	استاندارد :
۳۰ تستی	حجم کیت :

## VIDAS HBe/ Anti – HBe (HBe/HBeT)

### توضیح و یاد آوری

سنجش آنتی ژن «e» ویروس هپاتیت B (HBeAg) و آنتی بادی ضد آن (anti – Hbe) در پایش عفونت ناشی از ویروس هپاتیت B بسیار مهم است. وجود HBeAg در سرم نشان دهنده فاز تکثیری حاد ویروس هپاتیت B می باشد این آنتی ژن می تواند نمادی از پیشرفت عفونت بوده و همچنین در فاز حاد می تواند در تعیین پیش آگهی ارزشمند باشد از طرف دیگر وجود آنتی بادیهای anti – Hbe نمایانگر کاهش فاز تکثیری حاد ویروس بوده برای پایش serocon version و در عفونت های حاد برای تعیین ناقلین مزمن HBV ابزار مفیدی به حساب می آید.

## PRINCIPLE

### روش آزمایش

روش آزمایش بصورت روش آنزیم ایمنولوژی با شناسایی فلورسانت در مرحله آخر ELFA صورت می گیرد. فاز جامد گیرنده SPR به شکل نوک سمپلر و محل انجام واکنش در تمام طول آزمایش بکار برده می شود. تمامی محلولهای مورد نیاز برای آزمایش در خانه های استریپ موجود می باشد. تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس انجام می شود. بعد از مرحله رقیق سازی سرم در دستگاه، سرم چندین بار درون SPR کشیده می شود و سپس بیرون ریخته می شود و سپس بیرون ریخته می شود. در طول زمان آزمایش اگر HBeAg درون سرم موجود باشد با آنتی بادی منوکلونال کد شده درون SPR و

آنتی بادی conjugate مخلوط می شود. باقی مانده آنزیم conjugate که با چیزی ترکیب نشده اند توسط شستشو خارج می گردند. وجود بیوتین توسط streptavidin کنجوگه همراه با آلکالاین فسفاتاز تشخیص داده می شود. در طول مرحله آخر شناسائی سوبسترا (4-methyl-umbeliferon) فسفات با آنزیم کنجوگه ترکیب می شود. این آنزیم conjugate سوبسترا را کاتالیز می کند و آنرا تبدیل به (4-methyl - ombeliferon) می کند. فلورسانت در  $450^{nm}$  اندازه گیری می شود. شدت فلورسانت متناسب با مقدار آنتی ژن موجود در نمونه است. در پایان آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس محاسبه می گردند. سپس پرینت جوابها بیرون می آید

#### آنتی بادی های anti - HBe

در تست anti- HBe از روش مشابه تست HBe Ag استفاده می شود البته همراه با آماده سازی نمونه سرم قبل از آزمایش اضافه کردن محلول  $S_1$  و آماده سازی نوترالیزاسیون این محلول باید ۱ ساعت در انکوبه ۳۷ باقی بماند. در طول انکوباسیون سرم ترکیب می شود ( البته در صورت وجود آنتی بادی در سرم ) سپس تست HBe Ag برای تشخیص قسمت انحصاری و آزاد HBe Ag عمل می کند. حضور آنتی بادی HBe Ag میزان سیگنال را کم می کند و کاهش می دهد. اگر anti- HBe در سرم وجود نداشته باشد با اضافه کردن  $S_1$  میزان HBe Ag به طور کامل مشخص خواهد شد. تفسیر ویژه جواب تست anti- HBe بطور اتوماتیک توسط دستگاه مشخص خواهد شد و سپس پرینت جوابها بیرون می آید.

۳۰ عدد استریپ HBE	STR	آماده برای مصرف
۳۰ عدد HBE SPR 1×30	SPR	قسمت داخلی SPR با HbeAb - anti پوشیده شده ، آماده برای مصرف
کنترل مثبت HBE Ag 1×1.5ml (مایع)	C1	پروتئین ثابت با ترکیب HBcAg + 0/9 g/l سدیم اسید آمده برای مصرف
کنترل منفی HBC/Anti- HBe (مایع) 1×3ml	C2	کنترل منفی HBcAg + سرم انسانی + 0/9 g/l سدیم اسید آمده برای مصرف
کنترل مثبت anti HBE 1×1.5ml (مایع)	C3	پروتئین ثابت با ترکیب HBcAg + 0/9 g/l سدیم اسید
استاندارد Ag HBE ) پودری ( 4×1ml	S1	پروتئین ثابت با ترکیب HBcAg + پروتئین R2 محافظت کننده s1 باید توسط 1ml از محلول R2 حل شود. در دمای ۸-۲ به مدت ۶ ماه پایدار می ماند.
استاندارد anti-HBe 1×5ml	S2	شامل سرم انسانی + 0/9 g/l سدیم اسید آمده برای مصرف
محلول رقیق کننده S1 1×5ml	R1	0/9 g/l سدیم اسید آمده برای مصرف
1 MLE card		
1 package insert		

## THE SPR

دیواره درونی SPR در مرحله تولید با anti-HBe پوشیده شده است. هر SPR توسط کدی بنام HBe شناسائی می شود. فقط تعداد لازم از SPR ها را از درون جعبه نقره ای بیرون آورده و مطمئن شوید پس از باز کردن در زیپ کیف بطور کامل بسته شده است.

## THE Strip

استریپ شامل ۱۰ خانه می باشد که توسط یک فویل آلومینیومی سطح خانه ها پوشیده شده است. روی این فویل اطلاعاتی شامل بارکدی که نشان دهنده کد آزمایش می باشد، شماره سریال کیت و تاریخ انقضاء کیت است. آن قسمت از فویل که روی خانه اول را پوشانده دارای یک سوراخ می باشد که در واقع جای ریختن نمونه sample است. آخرین خانه از هر استریپ strip حاوی محلول سوبسترا است و مرحله آخر خوانش در اینجا صورت می گیرد خانه های مرکزی strip شامل محلول های مختلف می باشند که برای انجام آزمایش مورد نیازند.

شماره خانه ها WELL	محلولها Reagentes
۱	محل ریختن نمونه
۲	کنجواگه : بیوتین کد شده با anti- HBeAb منوکلونال + 0/9 g/l سدیم اسید 600ml
۳-۴-۵-۶-۷-۸	بافر شستشو: بافر سالین (0/05 mol/l) با PH=7/8 همراه با 0/9 g/l سدیم اسید 600ml

۵	Tracer : آلکالاین فسفاتاز کد شده با streptavidin + 0/9 g/l سدیم اسید 400ml
۱۰	کووت نوری همراه با سوستر: methyl ombeliferen -4 فسفات + DEA , 0/6m mol/l +6/6% سدیم اسید (300ml)

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد :

### Maternal Required but not Provided

\* سمپلر 100 و 150 لاندا

\* دستکش بدون پودر

### نکات قابل توجه Warning and precautions

فقط برای موارد تشخیصی کاربرد دارد.

کاربرد تخصصی و حرفه ای دارد .

این کیت شامل محصولات انسانی است .

توصیه می شود این محصول از عفونت های واگیر دار مراقبت گردد.

در صورتی که زیپ کیف SPR سوراخ باشد از آن استفاده نشود.

از استریپ هایی که فویل روی آنها صدمه دیده استفاده نشود.

از محلول هایی که تاریخ انقضاء آنها گذشته است استفاده نشود .

محلول ها با شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید.

از دستکش بدون پودر استفاده کنید چون پودرباعث جوابهای مثبت و منفی کاذب میشود.

## شرایط نگهداری Storage conditions

کیت HBe/Anti HBe در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود. محلول ها را فریز نکنید به غیر از استاندارد که بصورت پودراست و پس از حل کردن باید آنها را فریز کرد در  $20^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شود. بقیه محتویات کیت را که استفاده نکرده اید به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید.. اگر نگهداری بر طبق شرایط گفته شده باشد صورت بگیرد تمامی محتویات کیت تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی جعبه کیت پایدار خواهند ماند.

## نوع نمونه و نحوه گرد آوری آن Specimen type and collection

از سرم یا از پلاسما همراه با لیتیم هپارینه، سدیم سیترات یا EDTA استفاده کنید. توصیه شده که آزمایشگاهها سازگاری سرم جمع آوری شده با تیوب را چک کنند. از گرم کردن سرم خوداری کنید.

استفاده از نمونه های حاوی فاکتورهای زیر توصیه نمی شود:

همولایز ( هموگلوبین : 0-506 mmol/l )

لیپمیک ( لیپید : 0-10 g/l )

بیلی روبین ( بیلی روبین با غلظت 0-490mmol/l )

در اینصورت نمونه های جدید تهیه کنید. از نمونه های غیر فعال استفاده نکنید.

## Specimen Stability ( پایداری نمونه ها )

سرم می تواند در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ روز پایدار بماند اگر به نگهداری طولانی تری نیازمندید باید نمونه ها را فریز کنید. آنها در دمای  $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$  - فریز کرد (از فریز کردن



ودوباره در یخچال قرار دادن جلوگیری کنید). مطالعات نشان داده که نمونه های فریز شده در فریزر هیچ تاثیری بر روی جوابها نخواهند داشت .

## کارت ویژه اطلاعات بارکد      Master lot data entry

قبل از اینکه محلولهای جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس وارد کنید . این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد . در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهد بود . برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه داده شود . این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون      Calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود . بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید std به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود و همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دوبل به دستگاه داده می شود . مقدار استاندارد باید در بازه نوشته شده در پائین MLE کارت باشد اگر در بازه RFV نبود باید دوباره کیت را کالیبر کرد.

## مراحل انجام آزمایش Procedure

فقط تعداد مورد نیاز از محلول ها استاندارد ، کنترل SPR,Strip را از یخچال در آورده و اجازه دهید نیم ساعت در دمای اتاق باقی بمانند . برای هر نمونه یک SPR,Strip بردارید و مطمئن شوید که در زیپ کیف SPR کاملاً بسته شده است . کلمه HBe را در section مورد نظر تایپ کنید . استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دابل به دستگاه داده می شود . در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت باید  $C_1$  و کنترل منفی باید  $C_2$  را تایپ کنید. قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت  $10+$  ثانیه آنها را مخلوط کنید. حجم مکش برای نمونه استاندارد و کنترل و سرم 150 لاندا می باشد . استریپ و SPR ها را درون دستگاه قرار دهید و از هم رنگ بودن برچسب های آنها اطمینان حاصل کنید . دکمه Start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط کامپیوتر دستگاه انجام می گیرد . مدت زمان انجام آزمایش HBe در حدود  $90+$  دقیقه می باشد. پس از پایان آزمایش SPR,Strip ها را از دستگاه خارج کنید .

## Result and interpretation

## جوابها و تفسیر آنها

پس از اتمام آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط وایداس محاسبه می گردند . فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود . اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground مربوط به سوبسترای خانه آخر است . خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی است که سوبسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود.) RFV از تفاوت میزان back ground و خوانش دوم محاسبه می شود . این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است . وایداس برای

هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد .

$$i = \frac{\text{میزان تست RFV نمونه}}{\text{استاندارد RFV } S_1}$$

مقدار تست i	تفسیر
$i < 0/1$	عدم حضور HBE Ag: منفی
$i \geq 0/1$	حضور HBE Ag: مثبت

تفسیر جوابهای تست بر اساس تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات تکمیل می شود

## anti-HBe

## مراحل انجام

برای انجام این تست باید محلول های از قبل آماده شده را به مدت ۱ ساعت در انکوبه ۳۷ گذاشت یا مستقیماً در tray های وایداس قرار داد.

### Preliminary incubation

برای مخلوط کردن  $C_1, C_2, C_3, S_1, S_2$  از ورتکس استفاده کنید. به تعداد لازم استریپ بردارید درون سوراخ اول از هر کدام 100 لاندا از استاندارد S1 بریزید در دو استریپ اول 100 لاندا از S1 اضافه کنید و استریپ سوم و چهارم 100 لاندا از C1, C2 با کشیدن و خالی کردن محلولها توسط سمپلر آنها را با هم مخلوط کنید به مدت ۱ ساعت آن ها را در section قرار دهید پس از پایان یکساعت مراحل زیر را دنبال کنید :

## testing with instrument

## انجام تست توسط دستگاه

کلمه HBeT را درون section مورد نظر تایپ کنید استاندارد s1 بصورت دابل گذاشته می شود. در صورت نیاز به کنترل مثبت با C3 شناخته می شود و کنترل منفی با C2. به تعداد استریپ ها در جایگاه ویژه SPR قرار دهید و پس از برداشتن SPR ها از بسته بودن کامل در زیپ کیف اطمینان حاصل کنید. دکمه START را فشار دهید تمام مراحل بطور اتوماتیک توسط کامپیوتر وایداس انجام می گیرد. این تست در حدود ۹۰ دقیقه به طول خواهد انجامید پس از پایان آزمایش استریپ و SPR را دور بریزید.

## Result and interpretation

## جوابها و تفسیر آنها

پس از اتمام آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط وایداس محاسبه می گردند. فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود. اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground مربوط به سوبسترای خانه آخر است. خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی است که سوبسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود). RFV از تفاوت میزان back ground و خوانش دوم محاسبه می شود. این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است. وایداس برای هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد.

مقدار تست	تفسیر
$I < 0/4$	وجود anti- HBe مثبت
$0/4 \leq i < 0/5$	مشکوک
$i \geq 0/5$	عدم وجود anti- HBe منفی

### کنترل کیفی Quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد . کنترل ها باید بلافاصله پس از باز کردن کیت مورد استفاده قرار بگیرد . کنترل برای چک کردن کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد و دستگاه فقط به اسم C1,C2 کنترل ها را می شناسد ، در صورتی که از تاریخ انقضاء کنترل گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.

HBCT	تست :
(Inhibition با روش) ELFA	روش آزمایش :
۱۵۰ لاندا	حجم مکش :
۹۰ دقیقه	زمان انجام آزمایش :
triplicate	استاندارد :
۶۰ تستی	حجم کیت :

## VHDAS Anti- HBC Total (HBCT)

تست وایداس anti HBCT یک تست تمام اتوماتیک کیفی است که برای دستگاه وایداس طراحی شده است این تست برای شناسایی آنتی بادیهای مخالف با هپاتیت B یعنی (anti-HBC) در سرم انسان یا پلاسما بکار می رود. در این تست از تکنیک ELISA و روش ELFA استفاده شده است.

### توضیح و یاد آوری Summary and Explanation

ویروس هپاتیت B سبب عفونت هپاتیت بصورت حاد یا مزمن می باشد. هپاتیت مزمن می تواند بدون نشانه و یا همراه با چندین نشانه باشد. هپاتیت های همراه با نشانه در ۱/۱۰ تا ۵/۱۰ درصد از موارد دیده می شود. هپاتیت مزمن در بزرگسالان ۵ تا ۱۰ درصد را شامل می شود و در نوزادان هپاتیت مزمن در ۹۰ درصد از موارد بصورت مادرزادی است. اخیراً در حدود ۳۰۰ میلیون نفر از مردم جهان حامل ویروس هپاتیت مزمن هستند. هپاتیت مزمن ممکن است بدون نشانه یا همراه با نشانه باشد. آسیب جگر یکی از مهمترین این نشانه هاست که امکان پیشرفت آن تا تبدیل شدن به سیروز نیز وجود دارد. در ۵ درصد از موارد نیز امکان پیشرفت هپاتیت B و تبدیل آن به hepaticular carcinoma وجود دارد. هپاتیت B می تواند از طریق والدین به کودک به جنین، ارتباط جنسی منتقل شود. از جمله کسانی که در معرض ابتلا به این بیماری هستند شامل: کارکنان بیمارستان معتادین به مواد مخدر، کسانی که چندین شریک جنسی دارند، کسانی که چندین بار خون دریافت کرده اند، به بیماران همودیالیزی و افرادی که در ارتباط نزدیک با بیماران مبتلا به هپاتیت B هستند و نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به هپاتیت B.

## Clinical significance

Anti- HBC Igm, IgG می توانند در بیماران هپاتیت مزمن و یا حاد B و یا بیماران در حال بهبود شناسائی شوند آنتی بادیهای anti-HBC می توانند یک شاخص اپیدمیولوژی در جریان عفونت HBV باشند. در هپاتیت مزمن به آنتی بادی های anti-HBC یعنی (Igm,IgG) معمولاً ۲ تا ۳ هفته بعد از آنتی ژن HBC,HBS در بدن ظاهر می گردند . در هر حال anti – HBC Igm در زمانی که بیماری به سمت بهبودی و یا به سمت حاد شدن پیشروی می کند کاهش می یابد . میزان بالای anti-HBC IgG در طول بیماری و بعد از دوره بهبودی شناسائی می شود . anti-HBC IgG می تواند چندین سال پس از بهبودی یا حتی تا پایان عمر در بدن باقی بماند . در هپاتیت مزمن تنها مقدار anti – HBC Igm می تواند شاخص فاز فعال بیماری باشد. وجود آنتی بادیهای anti – HBC نمی تواند دال بر بهبودی باشد بلکه تنها حضور آنتی بادیهای anti – HBS می تواند ایمنی و بهبودی را تأیید کنند.

## PRINCIPLE

## روش آزمایش

تست anti – HBC T بر پایه الیزا و با روش ELFA (Enzyme Linked Fluorecent assay) صورت می گیرد. فاز جامد گیرنده به شکل نوک سمپلر و محل انجام واکنش در تمام طول آزمایش بکار برده می شود . تمامی مراحل بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس انجام می شود. بعد از مرحله رقیق سازی سمپل درون SPR: دمای  $37^{\circ}\text{C}$  می رسد . آنتی بادی های anti – HBC (Igm,IgG) موجود در سمپل با HBCAg کد شده درون SPR ترکیب می شوند قسمتهای از نمونه که با چیزی ترکیب نشده اند . در طول مرحله شستشو به سمت بیرون هدایت می شود . سپس آنتی بادی anti-HBC منوکلونال الکلاین فسفاتاز کد شده درون SPR به دمای  $37^{\circ}\text{C}$  می رسد و با HBCAg سرم ترکیب می شود. کنجوگه هایی که



با چیزی ترکیب نشده اند. توسط شستشو بیرون رانده می شوند. در طول مرحله آخر شناسائی سوبسترا (4-methyl-umbeliferyl) به داخل SPR کشیده می شود. آنزیم conjugate سوبسترا را کاتالیز می کند و آنرا تبدیل به (4-methyl umbeliferon) - می کند. فلورسانت در  $450^{nm}$  اندازه گیری می شود. شدت فلورسانت توسط اسکنر نوری دستگاه وایداس اندازه گیری می شود و شدت آن متناسب با مقدار آنتی بادی HBC - anti موجود در نمونه است. در پایان آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس تجزیه و تحلیل می شوند و بر طبق استاندارد بکار گرفته شده و موجود در حافظه محاسبه می گردند .

## محتویات کیت ۶۰ تستی HBCT

### Cotent of the kit (60tests) \_Reconstitution of Reagents

۶۰ عدد	آماده برای مصرف
اسـتـریـپ HBCT	
۶۰ عدد SPR 2x30 HBCT	سطح داخلی SPR توسط HBS Ag پوشیده شده است ، آماده برای مصرف
کنترل مثبت HBCT (مایع) 1x1.5ml	سرم انسانی شامل آنتی بادی anti-HBC + /2g/l gentamaycin 1g/l+sulfate سدیم اسید ، آماده برای مصرف
کنترل منفی HBCT	سرم انسانی بدون آنتی بادیهای anti-HBC + /2g/l 1g/l+gentamaycin sulfate سدیم اسید مقسدار آ» باید در بازه



خانه های مرکزی strip شامل محلول های مختلف می باشند که برای انجام آزمایش مورد نیازند.

محلولها	خانه های استریپ
محل ریختن سرم ، استاندارد ، کنترل	۱
رقیق کننده سرم : بافرسالین (50mmol/l) = PH7/4 با پروتئین و ثابت کننده شیمیایی + 5.9g/l سدیم اسید (300 ml)	۲
بافر شستشو : بافرسالین (50mmol/l) = PH7/4 با پروتئین و ثابت کننده شیمیایی + 5.9g/l سدیم اسید (600 ml)	۳-۴-۵-۶-۷-۸
کنجوگه : آلکالاین فسفاتاز کد شده با آنتی بادی anti-HBC منوکلونال + 0.9g/l سدیم اسید (400ml)	۵
کووت نوری همراه با سوپسترا : 4-methyl umbeliferon فسفات + 1g/l+6/6%mol/l , 0/62 mol/l سدیم اسید (300ml)	۱+

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد :

**Maternal Required but not Provided**

\* سمپلر 150 لاندا

\* دستکش بدون پودر

**warning and precautions نکات قابل توجه**

فقط برای مصارف پزشکی کاربرد دارد.

برای تشخیص های تخصصی کاربرد دارد .  
این کیت شامل محصولات انسانی است .  
در صورتی که زیپ کیف SPR سوراخ باشد از آن استفاده نشود.  
از استریپ هایی که فویل روی آنها صدمه دیده استفاده نشود.  
از محلول هایی که تاریخ انقضاء آنها گذشته است استفاده نشود .  
محلول ها با شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید.  
از دستکش بدون پودر استفاده کنید چون پودرباعث جوابهای مثبت و منفی کاذب در  
تستهای ایمونولوژی میشود.  
دستگاه وایداس و مینی وایداس باید بطور مرتب توسط محلول ۰/۵ هیپوکلرید تمیز گردند  
(دفترچه های user را مطالعه کنید ).

## نوع نمونه و نحوه گرد آوری آن Specimen type and collection

از سرم های فاقد آلودگی ( تیوب خشک - ژل جدا کننده ) استفاده کنید یا از پلاسما ( با آنتی  
کواگولانت معتبر ) یا EDTA ، لیتیم هپارینه ، سیترات استفاده کنید این نوع نمونه ها برای  
تست HBCT توصیه نمی شوند.

همولایز ( هموگلوبین : 0-340 mmol/l )

لیپمیک ( لیپید : 0-5 g/l )

بیلی روبین ( بیلی روبین با غلظت 0-50mmol/l )

از نمونه های آلوده استفاده نکنید.

## Specimen Stability

## ( پایداری نمونه ها )

سرم را باید توسط ساتیفوژ جدا کرد نمونه ها می تواند در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ روز پایدار بمانند اگر به نگهداری طولانی تری نیازمندید باید نمونه ها را فریز کنید . آنرا در دمای  $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$  - فریز کرد ( تا ۱ بار اجازه فریز کردن بیرون آوردن از یخچال را دارید ). مطالعات نشان داده که نمونه های فریز شده به مدت ۲ ماه در فریز هیچ تاثیری بر روی اول جوابها نخواهند داشت .

## Master lot data entry

## کارت ویژه اطلاعات بارکد

قبل از اینکه محلولهای جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس وارد کنید . این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد . در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهد بود . برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه داده شود . این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## Calibration

## کالیبراسیون

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود . بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید std به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود و همچنین باعث

حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دوبل به دستگاه داده می شود. مقدار استاندارد باید در بازه نوشته شده در پائین MLE کارت باشد اگر در بازه RFV نبود باید دوباره کیت را کالیبر کرد.

### مرحله انجام آزمایش Procedure

فقط تعداد مورد نیاز از محلول ها استاندارد ، کنترل SPR,Strip را از یخچال در آورده و اجازه دهید نیم ساعت در دمای اتاق باقی بمانند . برای هر نمونه یک SPR,Strip بردارید و مطمئن شوید که در زیپ کیف SPR کاملاً بسته شده است . کلمه HBCT را در section مورد نظر تایپ کنید . استاندارد توسط  $S_2$  شناخته می شود و بصورت Triplicate به دستگاه داده می شود . در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت باید  $C_1$  و کنترل منفی باید  $C_1$  را تایپ کنید. قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت ۱۰ ثانیه آنها را مخلوط کنید. حجم مکش برای نمونه استاندارد و کنترل و سرم 150 لاندا می باشد . استریپ و SPR ها را درون دستگاه قرار دهید و از هم رنگ بودن برجسب های آنها اطمینان حاصل کنید . دکمه Start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط کامپیوتر دستگاه انجام می گیرد . مدت زمان انجام آزمایش HBCT در حدود ۹۰ دقیقه می باشد. پس از پایان آزمایش SPR,Strip ها را از دستگاه خارج کنید .

## جوابها و تفسیر آنها

## Result and interpretation

پس از اتمام آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط وایداس محاسبه می گردند . فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود . اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground مربوط به سوبسترای خانه آخر است . خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی است که سوبسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود.) RFV از تفاوت میزان back ground و خوانش دوم محاسبه می شود . این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است . وایداس برای هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد . تفسیر جوابهای تست بر اساس تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات تکمیل می شود .

$$i = \frac{\text{RFV بیمار}}{\text{RFV استاندارد}} = \text{میزان تست}$$

index	interpretation
$i < 1$	وجود آنتی بادیهای anti-HBC
$1 \leq i < 1.4$	مشکوک
$i \geq 1.4$	عدم وجود آنتی بادیهای anti-HBC

## کنترل کیفی Quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد . کنترل ها باید بلافاصله پس از باز کردن کیت مورد استفاده قرار بگیرد . کنترل برای چک کردن کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد و دستگاه فقط به اسم C1, C2 کنترل ها را می شناسد ، در صورتی که از تاریخ انقضاء کنترل گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.





ویروس هپاتیت B سبب عفونت هپاتیت بصورت مزمن یا حاد می باشد. هپاتیت مزمن می تواند بدون نشانه یا همراه با چندین نشانه باشد. هپاتیت های همراه با نشانه در ۱/ تا ۵/ درصد از موارد را شامل می شوند. هپاتیت مزمن در بزرگسالان ۵ تا ۱۰ درصد را شامل می شود. و در نوزادان هپاتیت مزمن تا ۹۰ درصد از موارد بصورت مادرزادی است. اخیراً در حدود ۳۰۰ میلیون نفر از مردم جهان حاوی ویروس هپاتیت مزمن هستند. هپاتیت مزمن ممکن است بدون نشانه یا همراه با نشانه باشد. آسیب جگر یکی از مهمترین این نشانه هاست که امکان پیشرفت آن تا تبدیل شدن به سیروز نیز وجود دارد. در ۵ درصد از موارد نیز امکان پیشرفت هپاتیت B و تبدیل آن به hepaticullar carcinoma وجود دارد. هپاتیت B می تواند از طریق والدین، مادر به جنین، ارتباط جنسی منتقل شود. از جمله کسانی که در معرض ابتلا به این بیماری هستند شامل: کارکنان بیمارستان، معتادین به مواد مخدر، کسانی که چندین شریک جنسی دارند، کسانی که چندین بار خون گرفته اند، بیماران همودیالیزی و افرادی که در ارتباط نزدیک با بیماران مبتلا به هپاتیت B هستند و نوزدان متولد شده از مادران مبتلا به هپاتیت B.

انتهی بادی های anti- HBC Igm یک عامل غیر مستقیم در عفونت دهانی واگیردار و هپاتیت B است.

## PRINCIPLE

## روش آزمایش

تست anti-HBC T بر پایه الایزا و با روش ELFA صورت می گیرد. فاز جامد گیرنده SPR به شکل نوک سمپلر و محل انجام واکنش در تمام طول آزمایش بکار برده می

شود. تمامی محلولهای مورد نیاز برای آزمایش در خانه های استریپ موجود می باشد. تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس انجام می شود. بعد از مرحله رقیق سازی نمونه Igm موجود در سرم با آنتی بادی anti - m chain که درون دیواره داخلی SPR کد شده ترکیب می شوند قسمتهای از نمونه که با چیزی ترکیب نشده اند در طول مرحله شستشو به سمت بیرون هدایت می شود. سپس آنتی بادی anti Igm HBC- با HBCAg و آنتی بادی منوکلونال anti-HBC- آلکالاین فسفاتاز ترکیب می شوند. باقی مانده آنزیم SPR که با چیزی ترکیب نشده اند توسط شستشو بیرون رانده می شوند. در طول مرحله آخر شناسائی سوبسترا (4-methyl-umbeliferyl) فسفات با آنزیم کانجوگه ترکیب می شود. این آنزیم conjugate سوبسترا را کاتالیز می کند و آنرا تبدیل به (4-methyl - umbeliferon) می کند. فلورسانت در  $450^{nm}$  اندازه گیری می شود. شدت فلورسانت متناسب با مقدار آنتی بادی anti - HBCIgm موجود در نمونه است. در پایان آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس محاسبه می گردند که بستگی به استاندارد  $S_1$  موجود در حافظه دارد. سپس پرینت جوابها بیرون می آید.

### THE SPR

دیواره درونی SPR در مرحله تولید با anti-human m chain antibody پوششیده شده است. هر SPR توسط کدی بنام HBCM شناسائی می شود. فقط تعداد لازم از SPR ها را از درون جعبه نقره ای بیرون آورده و مطمئن شوید پس از باز کردن در زیپ کیف بطور کامل بسته شده است.

۳۰ عدد استریپ HBCM	STR	آماده برای مصرف
۳۰ عدد HBCM SPR 1×30	SPR	قسمت داخلی SPR با anti-HBC M anti body پوشیده شده، آماده برای مصرف
کنترل مثبت HBCM (مایع) 1×2ml	C1	سرم غیر فعال + سرم شامل anti- HBC IgM + 0/2g/l جنتامایسین سولفات + 1g/l سدیم اسید واحد آن peiu/ml است مقدار آن باید در بازه نوشته شده در پایین cantor (c1) <sup>+</sup> dose valve MLE موجود باشد.
کنترل منفی HBCM (مایع) 1×2ml	C2	سرمی که فاقد anti-HBC IgM می باشد + 0/2g/l جنتامایسین سولفات + 1g/l سدیم اسید، آماده برای مصرف
استاندارد HBCM (پودری) 2×1ml (	S1	سرم غیر فعال + سرم شامل anti-HBC IgM + 0/2g/l جنتامایسین سولفات باید با 1ml آب مقطر حل شود ۱۵ دقیقه اجازه دهید تا کاملاً پودر حل شود پس ۱۰ ثانیه قبل از مصرف ورتکس کنید در دمای ۲-۸ برای ۴ هفته پایدار است و در فریزر 25±6- تا ۶ ماه پایدار است از فریز کردن مجدد خودداری کنید.
1 MLE card		کارت ویژه حاوی اطلاعات کالیبر برای کیت

## THE Strip

استریپ شامل ۱۰ خانه می باشد که توسط یک فویل آلومینیومی سطح خانه ها پوشیده شده است. روی این فویل اطلاعاتی شامل بارکدی که نشان دهنده کد آزمایش می باشد، شماره سریال کیت و تاریخ انقضاء کیت است. آن قسمت از فویل که روی خانه اول را پوشانده دارای یک سوراخ می باشد که در واقع جای ریختن نمونه sample است. آخرین خانه از هر استریپ strip حاوی محلول سوپسترا است و مرحله آخر خوانش در اینجا صورت می گیرد خانه های مرکزی strip شامل محلول های مختلف می باشند که برای انجام آزمایش مورد نیازند.

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد:

## Maternal Required but not Provided

\* سمپلر 100 لاندا

\* دستکش بدون پودر

## نکات قابل توجه Warning and precautions

فقط برای موارد تشخیصی کاربرد دارد.

برای کاربرد تخصصی و حرفه ای دارد.

این کیت شامل محصولات انسانی است.

توصیه می شود این محصول از عفونت های واگیر دار مراقبت گردد.

در صورتی که زیپ کیف SPR سوراخ باشد از آن استفاده نشود.

از استریپ هایی که فویل روی آنها صدمه دیده استفاده نشود.

از محلول هایی که تاریخ انقضاء آنها گذشته است استفاده نشود .

محلول ها با شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید.

از دستکش بدون پودر استفاده کنید چون پودرباعث جوابهای مثبت و منفی کاذب میشود.

خانه ها weks	محلولها Reagents
۱	محل ریختن نمونه سرم ، استاندارد یا کنترل
۲	رقیق سازی نمونه شامل : بافر با PH7/4 + پروتئین و ثابت کننده شیمیایی 1g/l+ سدیم اسید + محصولات اصلی انسانی (400ml)
۳-۴-۵-۸-۹	بافر شستشو : tris بافر 50mmol/l با PH7/4 + پروتئین و ثابت کننده شیمیایی 1g/l+ سدیم اسید (600ml)
۶	کنجوجه : آلکالاین فسفاتاز کد شده با آنتی بادی منوکلونا ل anti-HBC + 1g/l سدیم اسید + سرم منفی غیر فعال (300ml)
۷	HBC ترکیب شده با آنتی ژن E.coli + 1g/l سدیم اسید + سرم انسانی منفی غیر فعال 300ml
۱۰	کووت سوپسترا : ( 4-methyl-umboliferon ) mmol/l + 0/6 + 1g/l+ %6/6 PH 9.2 , %0/62mol/l سدیم اسید (300ml)

### شرایط نگهداری Storage conditions

کیت HBC Igm در دمای °C 2-8 نگهداری شود . محلول ها را فریز نکنید به غیر از استاندارد

که بصورت پودر است و پس از حل کردن باید آنها را فریز کرد در °C 20- نگهداری شود. بقیه

محتویات کیت را که استفاده نکرده اید به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید . پس از برداشتن مقدار لازم از SPR از بسته بودن کامل در زیپ کیف اطمینان حاصل کنید. چک کنید که زیپ کیف سوراخ یا آسیب دیده نباشد ؛ اگر بود از آن SPR ها استفاده نشود. اگر نگهداری بر طبق شرایط گفته شده صورت بگیرد تمامی محتویات کیت تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی جعبه کیت پایدار خواهند ماند .

### نوع نمونه و نحوه گرد آوری آن Specimen type and collection

از سرم های فاقد آلودگی ( تیوب خشک – ژل جدا کننده ) استفاده کنید یا از پلاسما ( با آنتی کوآگولانت معتبر ) یا EDTA ، لیتیم هپارینه ، سیترات استفاده کنید. استفاده از این نمونه های زیر توصیه نمی شوند:

همولایز ( هموگلوبین : 0-320 mmol/l )

لیپمیک ( لیپید : 0-5 g/l )

بیلی روبین ( بیلی روبین با غلظت 0-560mmol/l )

در اینصورت نمونه های جدید تهیه کنید. از نمونه های غیر فعال استفاده نکنید.

### Specimen Stability ( پایداری نمونه ها )

سرم را باید توسط ساتیفوز جدا کرد نمونه ها می تواند در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ روز پایدار بمانند اگر به نگهداری طولانی تری نیازمندید باید نمونه ها را فریز کنید . آنرا در دمای  $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$  - فریز کرد ( تا ۱ بار اجازه فریز کردن بیرون آوردن از یخچال را دارید ). مطالعات

نشان داده که نمونه های فریز شده به مدت ۲ ماه در فریز هیچ تاثیری بر روی جوابها نخواهند داشت .

## کارت ویژه اطلاعات بارکد      Master lot data entry

قبل از اینکه محلولهای جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس وارد کنید . این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد . در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهد بود . برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه داده شود . این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون      Calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود . بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید std به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود و همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دویل به دستگاه داده می شود . مقدار استاندارد باید در بازه نوشته شده در پائین MLE کارت باشد اگر در بازه RFV نبود باید دوباره کیت را کالیبر کرد.

## مراحل انجام آزمایش Procedure

فقط تعداد مورد نیاز از محلول ها استاندارد ، کنترل SPR,Strip را از یخچال در آورده و اجازه دهید نیم ساعت در دمای اتاق باقی بمانند . برای هر نمونه یک SPR,Strip بردارید و مطمئن شوید که در زیپ کیف SPR کاملاً بسته شده است . کلمه HBCM را در section مورد نظر تایپ کنید . استاندارد توسط  $c_2$  شناخته می شود و بصورت دابل به دستگاه داده می شود . در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت باید  $C_1$  و کنترل منفی باید  $C_1$  را تایپ کنید . قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت ۱۰ ثانیه آنها را مخلوط کنید . حجم مکش برای نمونه استاندارد و کنترل و سرم 100 لاند می باشد . استریپ و SPR ها را درون دستگاه قرار دهید و از هم رنگ بودن برچسب های آنها اطمینان حاصل کنید . دکمه Start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط کامپیوتر دستگاه انجام می گیرد . مدت زمان انجام آزمایش HBCM در حدود ۵۵ دقیقه می باشد . پس از پایان آزمایش SPR,Strip ها را از دستگاه خارج کنید .

## جوابها و تفسیر آنها Result and interpretation

پس از اتمام آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط وایداس محاسبه می گردند . فلورسانت در هر مرحله اندازه گیری می شود . اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground مربوط به سوپسترای خانه آخر است . خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین آمد و درون خانه آخر رفت صورت می گیرد ( هنگامی است که سوپسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود ) RFV از تفاوت میزان back ground و خوانش دوم محاسبه می شود . این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است . وایداس برای



هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد. تفسیر جوابهای تست بر اساس تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات تکمیل می شود.

تفسیر	مقدار تست بر حسب $\text{peiu/ml}$
منفی	$<5$
مشکوک	$\geq 5 \text{ and } <10$
مثبت	$\geq 10$

### کنترل کیفی Quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد. کنترل ها باید بلافاصله پس از باز کردن کیت مورد استفاده قرار بگیرد. کنترل برای چک کردن کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد و دستگاه فقط به اسم C1,C2 کنترل ها را می شناسد، در صورتی که از تاریخ انقضاء کنترل گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.

HBST	تست :
ELFA (با روش ساندویچ)	روش آزمایش :
۱۵۰ لاندا	حجم مکش :
۹۰ دقیقه	زمان انجام آزمایش :
duplicate	استاندارد :
0-500mlu/ml	محدوده اندازه گیری :
۶۰ تستی	حجم کیت :

## VHDAS Anti- HBS Total Quick (HBST)

### توضیح و یاد آوری

ویروس هپاتیت B (HBV) مثبت عفونت هپاتیت بصورت حاد یا مزمن می باشد. هپاتیت مزمن می تواند بدون نشانه و یا همراه با چندین نشانه باشد. هپاتیت همراه با نشانه در ۱/۰ تا ۵/۰ درصد از موارد دیده می شود. هپاتیت مزمن در بزرگسالان ۵ تا ۱۰ درصد را شامل می شود و در نوزادان هپاتیت مزمن در ۹۰ درصد از موارد بصورت مادرزادی است. اخیراً در حدود ۳۰۰ میلیون نفر از مردم جهان حامل ویروس هپاتیت مزمن هستند. هپاتیت مزمن ممکن است بدون نشانه یا همراه با نشانه باشد. آسیب جگر یکی از مهمترین این نشانه هاست که امکان پیشرفت آن تا تبدیل شدن به سیروز نیز وجود دارد. در ۵ درصد از موارد نیز امکان پیشرفت هپاتیت B و تبدیل آن به hepaticular carcinoma وجود دارد. هپاتیت B می تواند از طریق والدین به کودک و به جنین و یا از طریق، ارتباط جنسی منتقل شود. از جمله کسانی که در معرض ابتلا به این بیماری هستند شامل: کارکنان بیمارستان معتادین به مواد مخدر، کسانی که چندین شریک جنسی دارند، کسانی که چندین بار خون دریافت کرده اند، بیماران همودیالیزی و افرادی که در ارتباط نزدیک با بیماران مبتلا به هپاتیت B هستند و نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به هپاتیت B.

HBS Ag چندین روز یا چندین هفته پس از آلودگی بدن با ویروس در بدن ظاهر می گردد و می تواند تا چندین ماه پس از آن در بدن باقی بماند در اینگونه موارد تبدیل به هپاتیت مزمن می شود. عدم وجود HBS - Ag معمولاً همراه با وجود آنتی بادی anti - HBS است که یکی از نشانه های بهبودی است. در اینگونه موارد حضور anti- HBS وابسته به anti- HBC است. شناسائی anti- HBC برای بیمارانی که به این عفونت دچارند و نیز برای چک کردن تاثیر ایمنی بر ضد ویروس هپاتیت B (واکسیناسیون با HBS - Ag) بکار

می رود. استراتژی واکسیناسیون بر ضد ویروس B (HBV) بستگی به شرایط اپیدمیولوژی دارد. این واکسیناسیون برای افرادی که در معرض ابتلا به هپاتیت B هستند تجویز می گردد. در واکسیناسیون اختصاصی فقط anti-HBS مثبت است. افزایش مقدار anti-HBS متناسب با مقدار ابتدائی آن بعد از واکسیناسیون می باشد. گروه انجمن اروپائیان توصیه کرده اند انجام تست anti-HBC یک تا سه ماه بعد از واکسیناسیون باید پیگیری شود.

آماده برای مصرف	STR	۶+ استریپ HBST
قسمت داخلی SPR با آنتی ژن هپاتیت B پوشیده شده است، آماده برای مصرف	SPR	۶+ عدد SPR 2×30
سرم انسانی شامل HBS - anti 1g/l سدیم اسید واحد بر حسب mlu/ml است مقدار قابل قبول C1 در پائین MLE در قسمت Control c1 Dose Value نوشته شده آماده برای مصرف	C1	کنترل مثبت HBST (مایع) 1×1.5ml
سرم انسانی بدون anti-HBS 1g/l سدیم اسید، آماده برای مصرف	C2	کنترل منفی HBST (مایع) 1×6ml
سرم انسانی شامل anti-HBS +2/0 درصد gentaycin سولفات استاندارد باید با 1ml از آب مقطر حل شود با ورتکس مخلوط کنید بعد از حل کردن می تواند تا ۲ ماه در دمای ۸-۲ پایدار بماند.	S1	استاندارد (پودری) 3×1ml
کارت ویژه شامل اطلاعات کالیبراسیون کارخانه و		۱ عدد mle کارت

		اطلاعات لازم برای کالیبر کردن کیت است.
دفترچه توضیح کیت		

### THE SPR

دیواره درونی SPR در مرحله تولید با آنتی ژن ویروس هپاتیت B پلاسمای غیر فعال پوشیده شده است. هر SPR توسط کدی بنام HBST شناسائی می شود. فقط تعداد لازم از SPR ها را از درون جعبه نقره ای بیرون آورده و مطمئن شوید پس از باز کردن در زیپ کیف بطور کامل بسته شده است.

### توضیحات مربوط به استریپ HBST

#### Description of the HBST Strip

شماره خانه های استریپ	محلولها
۱	مخصوص ریختن نمونه ( سرم ، استاندارد ، کنترل )
۲	رقیق کننده نمونه ، بافر سالین (PH 7/8) + پروتئین و ثابت کننده شیمیایی + 1g/l سدیم اسید (600ml)
۳-۵-۷-۸-۹	محلول شستشو : بافر pH=7/4 شامل tween 20 + پروتئین و ثابت کننده شیمیایی + 1g/l سدیم اسید (600ml)
۴	بیوتین کد شده هپاتیت B و پلاسمای غیز فعال + 1g/l سدیم اسید + سرم انسانی (400ml)
۶	آلکالاین فسفاتاز + 1g/l سدیم اسید + gentamycin % 0/02 (400ml)
۱۰	

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد :

### Maternal Required but not Provided

\* سمپلر 150 لاندا

\* دستکش بدون پودر

### نکات قابل توجه

فقط برای مصارف پزشکی کاربرد دارد.

برای تشخیص های تخصصی کاربرد دارد .

این کیت شامل محصولات انسانی است .

در صورتی که زیپ کیف SPR سوراخ باشد از آن استفاده نشود.

از استریپ هایی که فویل روی آنها صدمه دیده استفاده نشود.

از محلول هایی که تاریخ انقضاء آنها گذشته است استفاده نشود .

محلول ها با شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید.

از دستکش بدون پودر استفاده کنید چون پودرباعث جوابهای مثبت و منفی کاذب در

تستهای ایمنولوژی میشود.

دستگاه وایداس و مینی وایداس باید بطور مرتب توسط محلول  $+5$  هیپوکلرید تمیز گردند

(اپراتور manual را مطالعه کنید).

### شرایط نگهداری Storage conditions

کیت **vidas HBS Total Quick** در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود . محلول ها را فریز نکنید

به غیر از محلول های پودری که پس از حل کردن باید آنها را فریز کرد که در اینصورت تا ۲

ماه پایداری خواهند داشت . بقیه محتویات کیت را که استفاده نکرده اید به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید . پس از برداشتن مقدار لازم از SPR از بسته بودن کامل در زیپ کیف اطمینان حاصل کنید. چک کنید که زیپ کیف سوراخ یا آسیب دیده نباشد ؛ اگر بود از آن SPR ها استفاده نشود. اگر نگهداری بر طبق شرایط گفته شده باشد صورت بگیرد تمامی محتویات کیت تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی جعبه کیت پایدار خواهند ماند .

## نوع نمونه و نحوه گرد آوری آن Specimen type and collection

سرم انسانی یا پلاسما ( جمع آوری شده در لیتیم هپارینه ویا ژل جدا کننده). توصیه می شود که هر آزمایشگاه سازگاری نمونه های جمع آوری شده با تیوپ ها را چک کند . توصیه می شود از نمونه های خونی با این مشخصات استفاده نکنید.

همولایز ( هموگلوبین : 0-300 mmol/l )

لیپمیک ( لیپید : 0-30 g/l )

بیلی روبین ( بیلی روبین با غلظت 0-510mmol/l )

اگر اینگونه نمونه هایی داشتید باید نمونه جدیدی تهیه کنید . از نمونه های غیر فعال استفاده نکنید.

## Specimen Stability ( پایداری نمونه ها )

سرم می تواند در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ روز پایدار بماند اگر به نگهداری طولانی تری نیازمندید باید نمونه ها را فریز کنید . آنرا در دمای  $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$  - فریز کرد ( تا ۳ بار اجازه فریز کردن بیرون آوردن از یخچال را دارید ). مطالعات نشان داده که نمونه های فریز شده به مدت ۲ ماه در فریز هیچ تاثیری بر روی اول جوابها نخواهند داشت .

## کارت ویژه اطلاعات بارکد

## Master lot data entry

قبل از اینکه محلولهای جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس وارد کنید. این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد. در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهد بود. برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه داده شود. این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون

## Calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود. بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید std به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تائید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود و همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دابل به دستگاه داده می شود. مقدار استاندارد باید در بازه نوشته شده در پائین MLE کارت باشد اگر در بازه RFV نبود باید دوباره کیت را کالیبر کرد.



## مرحله انجام آزمایش Procedure

فقط تعداد مورد نیاز از محلول ها استاندارد ، کنترل SPR,Strip را از یخچال در آورده و اجازه دهید نیم ساعت در دمای اتاق باقی بمانند . برای هر نمونه یک SPR,Strip بردارید و مطمئن شوید که در زیپ کیف SPR کاملاً بسته شده است . کلمه HBST را در section مورد نظر تایپ کنید . استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دوپل به دستگاه داده می شود . در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت باید  $C_1$  و کنترل منفی باید  $C_1$  را تایپ کنید . قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت ۱۰ ثانیه آنها را مخلوط کنید . حجم مکش برای نمونه استاندارد و کنترل و سرم 150 لاندا می باشد . استریپ و SPR ها را درون دستگاه قرار دهید و از هم رنگ بودن برجسب های آنها اطمینان حاصل کنید . دکمه Start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بطور اتوماتیک توسط کامپیوتر دستگاه انجام می گیرد . مدت زمان انجام آزمایش HBST در حدود ۶۰ دقیقه می باشد . پس از پایان آزمایش SPR,Strip ها را از دستگاه خارج کنید .

## جوابها و تفسیر آنها Result and interpretation

پس از اتمام آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط وایداس محاسبه می گردند . فلورسانت در هر مرحله اندازه گیری می شود . اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground مربوط به سوپسترای خانه آخر است . خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی است که سوپسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود.) RFV از تفاوت میزان black ground و خوانش دوم محاسبه می شود . این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است . وایداس

برای هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد . تفسیر جوابهای تست بر اساس تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات تکمیل می شود . واحد این تست بر حسب mlU/ml است و بازه اندازه گیری وایداس برای HBST از 5-50 mlU/ml است.

تفسیر	مقدار تست (miu/ml)
منفی	<8
مشکوک	8 ≤ مقدار تست ≤ 12
مثبت	>12

اگر جواب این آزمایش بیشتر از 500mlU/ml باشد باید سرم را توسط محلول کنترل منفی C<sub>1</sub> رقیق کرد. این رقیق سازی باید به نسبت  $\frac{1}{15}$  صورت گیرد و مخرج ۱۵ باید در section مورد نظر وارد شود.

### کنترل کیفی Quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد . کنترل ها باید بلافاصله پس از باز کردن کیت مورد استفاده قرار بگیرد . کنترل برای چک کردن کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد و دستگاه فقط به اسم C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub> کنترل ها را می شناسد ، در صورتی که از تاریخ انقضاء کنترل گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.

HBS Ag(ultra)	تست :
ELFA (با روش ساندویچ)	روش آزمایش :
۱۵۰ لاند	حجم مکش :
FTS-FT4	تست های سازگار :
۶۰ دقیقه	زمان انجام آزمایش :
duplicate	استاندارد :
۶۰ تستی	حجم کیت :

## VIDAS HBS Ag Ultra (HBS)

قسمت HBS Ag Ultra یک تست کیفی اتوماتیک است که برای اندازه گیری آنتی ژن هپاتیت سطح B در سرم انسان بکار می رود این تست با تکنیک ELFA کار می کند و برای کار در دستگاه وایداس طراحی شده است.

### Summary and explanation

### شرح و یاد آوری

ویروس هپاتیت B سبب عفونت هپاتیت بصورت مزمن یا حاد می باشد . هپاتیت مزمن می تواند بدون نشانه یا همراه با چندین نشانه باشد . هپاتیت های همراه با نشانه در ۱/ تا ۵/ درصد از موارد را شامل می شوند . هپاتیت مزمن در بزرگسالان ۵ تا ۱۰ درصد را شامل می شود . و در نوزادان هپاتیت مزمن تا ۹۰ درصد از موارد بصورت مادرزادی است . اخیراً در حدود ۳۰۰ میلیون نفر از مردم جهان حاوی ویروس هپاتیت مزمن هستند. هپاتیت مزمن ممکن است بدون نشانه یا همراه با نشانه باشد . آسیب جگر یکی از مهمترین این نشانه هاست که امکان پیشرفت آن تا تبدیل شدن به سیروز نیز وجود دارد . در ۵ درصد از موارد نیز امکان پیشرفت هپاتیت B و تبدیل آن به hepaticullar carcinoma وجود دارد . هپاتیت B می تواند از طریق والدین ، مادر به جنین ، ارتباط جنسی منتقل شود . از جمله کسانی که در معرض ابتلا به این بیماری هستند شامل : کارکنان بیمارستان ، معتادین به مواد مخدر ، کسانی که چندین شریک جنسی دارند ، کسانی که چندین بار خون گرفته اند ، بیماران همودیالیزی و افرادی که در ارتباط نزدیک با بیماران مبتلا به هپاتیت B هستند و نوزدان متولد شده از مادران مبتلا به هپاتیت B .

کشف آنتی ژن در سال ۱۹۷۰ و بعد از آن شناسایی HBS Ag و همچنین هپاتیت A ( دهانی ) یکی از مهمترین گامها در تشخیص هپاتیت B بود. HBS Ag چندین روز یا چندین

هفته پس از تماس با ویروس در بدن ظاهر می گردد و می تواند تا چندین ماه پس از آن در بدن باقی بماند. حضور HBS Ag بیشتر از سه ماه در بدن باعث عفونت HBV می شود. عدم وجود آنتی ژن HBS همراه با وجود آنتی بادی HBS - anti است که یکی از نشانه های بهبودی است. تست آنتی بادی anti-HBS برای تأیید کردن تأثیر واکسن HBV صورت می گیرد. آنتی بادی anti-HBC معمولاً در مرحله اول بیماری تشخیص داده می شود. در طول هپاتیت حاد میزان anti-HBC بیشتر از 100UPEI/ml است. سپس مقدار آن کاهش پیدا کرده و یا از بین می رود. به هر حال در طول هپاتیت مزمن وجود مقدار کم Igm فاز فعال بیماری را تأیید می کند. آنتی بادی و بخصوص آنتی ژن مربوط به Total anti-HBC در طول هپاتیت حاد و مزمن قابل تشخیص است حتی بعد از دوره بهبودی بیماری نیز در بدن وجود دارند. HBC Ag یک پروتئین حلقوی با ساختاری شبیه به HBC Ag است اما با آنتی ژن های جدا و واضح در طول هپاتیت حاد یا مزمن حضور HBC Ag معمولاً وابسته به تغیر سرمی Anti-HBC از منفی به مثبت یک شاخص مهم دال بر بهبودی است.

## روش آزمایش PRINCIPLE

تست HBC Ag وایداس با روش ELFA بطور اتوماتیک در دستگاه وایداس انجام می گیرد. این آزمایش می تواند با دو روش مختلف صورت بگیرد. ۱- HBL روش طولانی ۹۰ دقیقه ای و ۲- HBS روش کوتاه و ۶۰ دقیقه ای است. فاز جامد گیرنده (SPR) قطعه ای به شکل نوک سمپلر می باشد و محل انجام واکنش هاست در طول آزمایش بکار می رود. محلول های لازم برای انجام آزمایش از قبل آماده و در خانه های استریپ موجود می باشند. تمامی مراحل آزمایش به طور اتوماتیک توسط دستگاه وایداس انجام می گیرد و تمامی

واکنشها نیز درون SPR صورت می گیرند ( بدین صورت که محلولها چندین بار به درون SPR کشیده شده و خارج می گردند). بعد از مرحله شستشوی اولیه آنتی ژن موجود در سرم با آنتی بادی منوکلونال که درون دیواره داخلی SPR کد شده است با آنتی بادی conjugate و بیوتین ترکیب می شود. باقی مانده سرم که با چیزی ترکیب نشده است توسط شستشو به سمت بیرون رانده می شود آنتی ژن با آنتی بادی conjugate درون SPR ترکیب می شود که در تماس با بیوتین است. مرحله بعدی شستشو باقیمانده سرمها را که با چیزی ترکیب نشده است را به سمت بیرون هدایت می کند.

در طول مرحله آخر شناسایی سوبسترا به داخل SPR کشیده می شود. آنزیم conjugate سوبسترا را کاتالیز می کند و آنرا تبدیل به (4-methyl – umbeliferon) می کند. فلورسانت در  $450^{nm}$  اندازه گیری می شود. شدت فلورسانت متناسب با غلظت آنتی ژن موجود در سرم می باشد. در پایان آزمایش جوابها بطور اتوماتیک توسط دستگاه و ایداس تجزیه و تحلیل می شوند و بر طبق استاندارد بکار گرفته شده و موجود در حافظه محاسبه می گردند.

### The SPR

دیواره درونی SPR در مرحله تولید با آنتی ژن HBS Ag منوکلونال پوشیده شده است هر کدام از SPR ها توسط کد «HBS» شناسایی می شود. فقط تعداد مورد نیاز از SPR ها را از درون زیپ کیف در آورده و مطمئن شوید بعد از باز کردن زیپ کیف در آن خوب و کامل بسته شده است.

Content of the Kit (60 testes) Reconstitution of Reagents :

آماده برای مصرف	STR	۶۰ عدد استریپ HBS
درون SPR توسط anti- HBS antibody منوکلونال پوشیده شده، آماده برای مصرف	SPR	۶۰ عدد SPR HBS
سرم پایه حاوی سرم غیر فعال انسانی HBS Ag + استاندارد باید توسط 1ml از آب مقطر خالص حل شود بعد ۲۰ دقیقه اجازه دهید تا حل شود توسط میگس کردن با ورتکس . بعد از حل کردن به مدت ۶ ماه دمای $25 \pm 6$ - پایدار می ماند از فریز کردن و از فریز بیرون آوردن جلوگیری کنید.	S1	استاندارد HBS ( پودری )  3×1ml
سرم پایه حاوی سرم غیر فعال انسانی 1g/l+ سدیم اسید ، مقدار c1 باید در بازه نوشته شده در پائین MLE باشد ، آماده برای کار	C1	کنترل مثبت HBS ( مایع )  1×1,5ml
سرم پایه + HBSAg + 1g/l سدیم اسید ، آماده برای کار	C2	کنترل منفی HBS (مایع)  1×1,5ml
شامل کالیبراسیون کارخانه و اطلاعات لازم برای کالیبر کردن کیت		1 MLE card
		دفترچه مربوط به نحوه کار  با کیت ۱

## THE Strip

استریپ شامل ۱۰ خانه می باشد که توسط یک فویل آلومینیومی سطح خانه ها پوشیده شده است. روی این فویل اطلاعاتی شامل بارکدی که نشان دهنده کد آزمایش می باشد، شماره سریال کیت و تاریخ انقضاء کیت است. آن قسمت از فویل که روی خانه اول را پوشانده دارای یک سوراخ می باشد که در واقع جای ریختن نمونه sample است. آخرین خانه از هر استریپ strip حاوی محلول سوبسترا است و مرحله آخر خوانش در اینجا صورت می گیرد. خانه های مرکزی strip شامل محلول های مختلف می باشند که برای انجام آزمایش مورد نیازند.

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد:

### Maternal Required but not Provided

\* سمپلر 150 لاند

\* دستکش بدون پودر

## Storage Condition

## شرایط نگهداری

- کیت HBS Ag وایداس را باید در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود.
- محلول ها را فریز نکنید بجز محلول  $S_1$  که بعد از حل کردن باید فریز شود.
- محلول های استفاده نشده را به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید.
- بعد از باز کردن کیت از سالم بودن و بسته بودن کیف نقره ای حاوی SPR اطمینان حاصل کنید؛ اگر اینطور نبود از آن زیپ کیف استفاده نکنید.
- به دقت زیپ کیف SPR را باز کنید و بعد از برداشتن مقدار لازم در زیپ را به دقت ببندید و بقیه زیپ کیف را به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  منتقل کنید.



- اگر نگهداری بر طبق شرایط گفته شده باشد تمامی محتویات کیت تا زمان تاریخ انقضاء پایدار می مانند.

## Specimens

## نوع نمونه و نحوه جمع آوری

برای انجام آزمایش از سرم استفاده کنید از تیوب خشک، تیوب همراه با ژل جدا کننده، تیوب خشک همراه با beads یا می توانید از پلاسمای جمع آوری شده با لیتیم هپارینه استفاده کنید. سرم و پلازما باید با Rellet جدا نگهداری شوند نمونه های شامل impurities باید توسط سانتریفوژ جدا شوند. از نمونه های ایکتریک ( غلظت بیلی روبین تا 500 mmol/l) و نمونه های همولیزی ( غلظت هموگلوبین تا 270 mmol/l) و نمونه های لیپمیک (تا 30mg/ml) و نمونه های غیر فعال استفاده نکنید.

## Specimens Stability

## پایداری نمونه

نمونه سرم می تواند در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ روز پایدار بماند. اگر به مدت زمان بیشتری برای نگهداری نیازمندید باید نمونه ها را در دمای  $6 \pm 25 -$  فریز کنید. این نمونه ها تا ۳ ماه پایداری خواهند داشت. مطالعات نشان داده که این نگهداری بر روی کیفیت جوابها تاثیری ندارد.

برای اطلاعات کاملتر می تواند user manual مربوط به وایداس یا مینی وایداس را مطالعه کنید.

## کارت ویژه اطلاعات بارکد

## Master lot data entry

قبل از اینکه محلول های جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس وارد کنید . این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد . در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهد بود. برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار MLE به دستگاه داده شود. این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون

## Calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود . بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید std به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود و همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دابل به دستگاه داده می شود . مقدار استاندارد باید در بازه نوشته شده در پائین MLE کارت باشد اگر در بازه RFV نبود باید دوباره کیت را کالیبر کرد.

## مراحل انجام آزمایش

## Test Procedure

۱- بعد از پایان زمان آزمایش SPR , Strip ها را دور نیم ساعت قبل از انجام تستها باید محلولها ، سرم ، Strip , SPR های مورد نیاز خود را از یخچال در آورید تا به دمای اتاق برسند .

۲- برای هر نمونه سرم بیمار یک استریپ و SPR بردارید و مطمئن شوید که پاکت نقره ای حاوی SPR بعد از باز شدن بطور کامل بسته شده است .

۳- اگر روش کوتاه مدت مورد نظر شماست HBS تایپ کنید و اگر روش بلند مدت مد نظرتان است HBL را تایپ کنید . استاندارد تحت عنوان  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دابل به دستگاه داده می شود اگر احتیاج به کنترل مثبت بود توسط  $C_1$  شناخته می شود همچنین کنترل منفی توسط  $C_2$  شناخته می شود.

۴- قبل از ریختن هر نوع نمونه ای اعم از ( سرم ، استاندارد ، کنترل ) در خانه اول به مدت ۱۰ ثانیه میکس کنید حجم مکش برای سرم استاندارد یا کنترل 150 لاندا است .

۵- به تعداد Strip ، در جایگاه ویژه SPR قرار دهید قبل از زدن دکمه Start از همرنگ بودن بر چسب استریپ و SPR ها اطمینان حاصل کنید.

۶- دکمه Start را بزنید تمام مراحل بطور اتوماتیک توسط وایداس انجام می شوند زمان انجام آزمایش HBS Ag حدود ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به طول خواهد انجامید ، بریزید.

## Result and interpretation

## جوابها و تفسیر آنها

بعد از اتمام زمان آزمایش جوابها به صورت اتوماتیک توسط کامپیوتر دستگاه وایداس محاسبه می شوند . فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه یا back ground به سوبسترای خانه آخر است ؛ خوانش دوم بعد از اینکه SPR پایین می آید و درون خانه آخر می رود؛ صورت می گیرد . (درهنگامی که سوبسترا با باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود صورت می گیرد .) RFV از تفاوت میزان

back ground و خوانش دوم محاسبه می شود. این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است. وایداس برای هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند که این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه می باشد.

$$i = \frac{\text{بیمار RFV}}{\text{استاندارد RFV}} = \text{میزان تست}$$

تفسیر جواب تست توسط تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات انجام می شود.

تفسیر	روش کوتاه	روش بلند
منفی	$i < 13$	$i < 10$
مثبت	$i \geq 13$	$i \geq 10$

اگر جواب آزمایش بیمار بدون سابقه قبلی مثبت باشد باید آزمایش را دوباره تکرار کرد و یا توسط HBS Ag confirm آنرا تأیید کرد. نمونه های مثبت (در صورت تکرار) باید توسط تست مشابه (پروتکل کوتاه یا بلند) دوباره تست شوند. قبل از انجام دوباره آزمایش نمونه ها باید دوباره سانتریفوژ شوند. تفسیر تست با توجه به تاریخچه قبلی بیمار و جواب دیگر آزمایشات صورت می گیرد. حساسیت کیت HBS Ag برای پروتکل بلند کمتر از ۰/۱۵ است.

کنترل کیفی Quality control یک کنترل مثبت و

یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد. کنترل ها باید بلافاصله بعد از باز کردن کیت جدید مورد استفاده قرار بگیرند. برای چک کردن کالیبراسیون باید از کنترل ها استفاده شود دستگاه فقط با اسم  $C_2, C_1$  این کنترل ها را می شناسد. در صورتی که از تاریخ انقضا کنترلها گذشته باشد معتبر نخواهند بود.



## VIDAS HAV Total (HAVT)

هپاتیت A به علت ویروس A که به خانواده Picorna virus تعلق دارد ایجاد می گردد و از طریق ارتباطات دهانی منتقل می شود و از نوع بیماریهای بدون نشانه است . بخصوص در کودکان ، ادامه پیدا کردن این بیماری به مدت چند سال باعث افزایش موارد نشان دار این بیماری در بیماران با سن بالا می گردد در موارد نادری نیز این نوع هپاتیت به یک بیماری حاد و کشنده تبدیل می شود شناسائی و تشخیص مستقیم هپاتیت A کار مشکلی می باشد. وقتی که ویروس هپاتیت A از طریق مدفوع دفع می گردد خیلی زود دوره این بیماری به پایان می رسد ( قبل از یانکه نشانه های بالینی بیماری ظاهر گردند ) مرحله ظهور ویروس هپاتیت A در خون در دوره کوتاهی دارد . بنابراین تشخیص سریع مقدار IgG و زمان Seroconversion را مشکل می سازد. IgG می تواند بلافاصله بعد از ظهور اولین نشانه های بالینی تشخیص داده شود و معمولاً به مدت دو تا ۴ ماه باقی می ماند . در موارد نادری نیز باقی مانده IgM می تواند ۶ تا ۱۲ روز بعد از عفونت اولیه تشخیص داده شود در موارد پیشگیری فعال anti-HAVM می تواند در سرم بیماران ۲ هفته پس از تزریق واکسن باقی بماند . تشخیص HAVT به شناسائی هپاتیت A کمک می کند و برای ایجاد حالت ایمنی از طریق واکسن Post کافی نیست .

## روش آزمایش Principle

روش آزمایش ترکیبی از آنزیم دو مرحله ای ایمونولوژی با روش مقایسه ای همراه با خوانش فلورسانت در مرحله آخر است (ELFA) فاز جامد گیرنده (SPR) قطعه ای به شکل نوک سمپلر است که در تمام مراحل آزمایش به عنوان فاز جامد گیرنده و محل انجام واکنش عمل می کند تمامی محلول های مورد نیاز برای انجام آزمایش در خانه های استریپ موجود و آماده مصرف می باشند . تمام مراحل آزمایش بصورت اتوماتیک و توسط دستگاه انجام می گیرد . ایمونوگلوبولین anti-HAV موجود در سرم با آنتی ژن غیر فعال ثابت شده درون SPR ترکیب می شود بقیه قسمت های سرم که با چیزی ترکیب نشده اند توسط شستشو خارج می گردند. آنتی بادی های منوکلونال پوشیده شده درون SPR با آنزیم کنجوگه آلکالاین فسفاتاز ترکیب می شوند. در طول مرحله آخر شناسایی سوپسترا (4-methyl umbeliferon) توسط آنزیم کنجوگه تبدیل به (4-methyl umbeliferon) می شود. فلورسانت در هر استریپ در طول موج  $450^{nm}$  اندازه گیری می شود . شدت فلورسانت در هر استریپ بستگی به غلظت anti-HAV موجود در سرم دارد. در پایان آزمایش جوابها بصورت اتوماتیک توسط دستگاه محاسبه می گردند . متناسب با استاندارد موجود در حافظه دستگاه ( و سپس پرینت جوابها بیرون می آید.

۳۰ عدد استریپ HAVT	STR	آماده برای مصرف
۳۰ عدد HAVT SPR 1×30	SPR	داخل آن با آنتی ژن غیر فعال HAV پوشیده شده، آماده برای مصرف
کنترل مثبت HAVT (مایع) 1×1ml	C <sub>1</sub>	سرم +anti-HAV 1g/l سدیم اسید مقدار آن باید در بازه MLE باشد، آماده برای مصرف
کنترل منفی HAVT (مایع) 1×1ml	C <sub>2</sub>	سرم انسانی +1g/l سدیم اسید، آماده برای مصرف
استاندارد HAVT (مایع) 1×2ml	S <sub>1</sub>	سرم +ANTI-HAV 1g/l سدیم اسید، آماده برای مصرف
1MLE card		کارت ویژه حاوی اطلاعات لازم برای کالیبراسیون کیت
1package insert		

### The SPR

دیواره درونی SPR در طول مرحله تولید با آنتی ژن غیر فعال HVA پوشیده شده است. هر SPR با کد HAVT شناسایی می شود. فقط تعداد مورد نیاز از SPR را از زیپ کیف برداشته و سپس از بسته بودن کامل زیپ کیف اطمینان حاصل کنید.

### The Strip

استریپ شامل ۱۰ خانه می باشد که توسط یک فویل آلومینیومی سطح تمامی خانه ها پوشیده شده است روی این ورقه یک سری اطلاعات نوشته شده است که شامل کد آزمایش، شماره سریال کیت و تاریخ انقضاء کیت می باشد. فویل روی خانه اول سوراخ



است و جای ریختن سرم می باشد خانه آخر از هر استریپ شامل سوپسترا است و مرحله آخر خوانش در اینجا صورت می گیرد . خانه های مرکزی استریپ شامل محلولهای مختلف مورد نیاز برای انجام آزمایش می باشند .

محل ریختن نمونه	خانه ها
رقیق کننده نمونه: TRIS بافر (0/2mol/l) PH6.2 + پروتئین ثابت کننده شیمیایی 1g/l + سدیم اسید (300ml)	۲
بافر شستشو: TRIS بافر (0/05mol/l) PH8 + تریتون PH8 8.78g/l + 100 سدیم کلرید + 0/9g/l سدیم اسید (600ml)	۳-۴-۶-۷-۸-۹
کنجوجه آنتی بادی منوکلونال anti-HAV همراه با رقیق کننده آلکالاین فسفاتاز بافر TRIS (0/05 mol/l , PH6.3) + پروتئین ثابت کننده شیمیایی + 0/9 g/l سدیم اسیدی (400ml)	۵
کووت همراه با سوپسترا 4-methyl-unbelifenyI (0/6 mmol/l) + ۶/۶% یا DEA (0/62 mol/l) + 1g/l سدیم اسید (300m/l)	۱۰

مواردی که به جز خرید کیت باید تهیه کرد:

\* سمپلر کالیبر شده 150 $\mu$

\* دستکش بدون پودر

### نکات قابل توجه warning and precaution

فقط برای موارد تشخیص بکار می رود فقط کاربرد تخصصی دارد. این کیت شامل محصولات تشخیصی برای انسان می باشد توصیه شده که این محصول از عفونت های

واگیردار مراقبت گردد. اگر در زیپ کیف باز بود و یا جعبه سوراخ بود از آن استفاده نشود. از دستکش بدون پودر استفاده کنید زیرا پودر روی جوابها اثر می گذارد و باعث جوابهای مثبت و یا منفی کاذب می شود. از SPR هایی که آلودگی جعبه یا صدمه دیدن آنها به وضوح دیده می شود استفاده نکنید. از کیت های تاریخ مصرف گذشته استفاده نکنید. محلولها از شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید. وایداس یا مینی وایداس باید بطور مرتب توسط هیپو کلرید ۰/۵ تمیز گردند ( دفترچه user را مطالعه کنید).

### شرایط نگهداری storage condition

کیت anti-HAV باید در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود. محلول ها را فریز نکنید .. بعد از باز کردن کیت و برداشتن مقدار لازم از SPRها از بسته بودن کامل زیپ کیف اطمینان حاصل کنید . اگر نگهداری کیت بر طبق شرایط گفته شده باشد تمامی محتویات کیت تا پایان زمان انقضاء نوشته شده روی جعبه کیت پایدار خواهند ماند.

### نوع نمونه و نحوه جمع آوری آن Specimens type and collection

سرم یا پلاسما ( لیتیم هپارینه یا EDTA) توصیه می شود که هر آزمایشگاهی سازگاری نمونه را با تیوب ها چک کند از نمونه های با مشخصات زیر استفاده نکنید:

همولایز ( غلظت هموگلوبین از 0-300 mmol/l)

لیپمیک ( غلظت لیپید از 0-2 mg/ml)

بیلی روبین ( غلظت بیلی روبین از 0-400 mmol/l)

در صورت داشتن چنین نمونه هایی توصیه می شود نمونه جدیدی تهیه کنید از سرم های غیر فعال استفاده نکنید.

## پایداری نمونه Specimen Stability

نمونه ها می توانند به مدت ۷ روز در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  پایدار بمانند. اگر به نگهداری طولانی تری احتیاج دارید باید آنها را در دمای  $-20$  فریز کنید که در اینصورت تا ۲ ماه پایدار خواهند ماند. مطالعات نشان می دهد اینگونه نمونه ها هیچ تاثیری بر روی جواب ها نخواهند داشت.

## کارت مخصوص وارد کردن اطلاعات کالیبراسیون

### Master lot data entry

قبل از اینکه محلول های جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس قرار دهید. این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس این سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهند بود. برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه وایداس داده شود. این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود. بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید استاندارد به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود. همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در محلول زمان استفاده از کیت می شود.

## مراحل انجام آزمایش procedure

نیم ساعت قبل از استفاده باید محلولها شامل استاندارد و کنترل، سرم، SPR, Strip های مورد نیاز را از یخچال خارج کرده و اجازه دهید تا به دمای اتاق برسند. برای هر بیمار یک استریپ و SPR قرار دهید و مطمئن شوید که پاکت نقره ای حاوی SPR بعد از باز شدن بطور کامل بسته شده است. کلمه HAVT را در section مورد نظر تایپ کنید. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و باید بصورت دوبل به دستگاه داده شده در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت از  $C_1$  و برای کنترل منفی از  $C_2$  استفاده کنید. قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت ۱۰ ثانیه آنها را mix کنید میزان حجم مکش برای استاندارد کنترل و سرم  $150\mu$  می باشد. استریپ و SPR ها را درون جایگاه های ویژه قرار داده و از هم رنگ بودن بر چسب های آنها اطمینان حاصل کنید. دکمه start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بصورت اتوماتیک توسط وایداس انجام می شود. مدت زمان انجام آزمایش HAVT حدود ۹۰ دقیقه می باشد. پس از اتمام آزمایش استریپ و SPR ها را دور بریزید.

## نتایج و نحوه تفسیر آنها Result and interpretation

پس از اتمام آزمایش جوابها بصورت اتوماتیک توسط کامپیوتر وایداس محاسبه می گردند. فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود. اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه back Ground مربوط به سوبسترای خانه آخر است. خوانش دوم قبل از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی که سوبسترا باقی مانده آنزیم درون دیواره داخلی SPR مخلوط می شود).

غلظت	تفسیر
$< 15 \text{ mlu/ml}$	منفی
$\geq 150 < 20 \text{ mul/ml}$	مثبت Borderline
$\geq 20 \text{ mul/ml}$	مثبت

نمونه های  $> 400 \text{ mol/ml}$  باید به نسبت  $\frac{1}{100}$  توسط کنترل منفی کیت رقیق شوند. مخرج کسر یعنی  $100+$  باید در section مربوطه وارد شود. تفسیر جوابها بر اساس تاریخچه بیمار و جواب دیگر تستها صورت می گیرد.

### تفسیر Borderline مثبت interpretation of borderline positive

نمونه های با غلظت بین ۱۵ و  $20 \text{ mol/ml}$  حاوی آنتی بادیهای anti-HAV می باشند و نمی تواند بیمار را به حالت ایمنی برساند توصیه می شود برای این موارد باید پس از چند روز دو باره از بیمار تست گرفته شود.

## کنترل کیفی quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد . کنترل ها باید بلافاصله بعد از باز کردن کیت جدید مورد استفاده قرار بگیرند . برای چک کردن کالیبراسیون باید از این کنترل ها استفاده شود . دستگاه فقط به اسم  $C_1$  و  $C_2$  این کنترل ها را می شناسد در صورتیکه از تاریخ انقضاء کنترل ها گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.

HAV M

تست :

ELFA (با روش Immunocapture)

روش آزمایش :

۱۰۰ لاند

حجم مکش :

۶۰ دقیقه

زمان انجام آزمایش :

duplicate

استاندارد :

۳۰ تستی

حجم کیت :

## VIDAS HAVIgM(HAV M)

هپاتیت A به علت ویروس هپاتیت A که به خانواده Picorna virus تعلق دارد ایجاد می گردد و از طریق ارتباطات دهانی منتقل می شود و از نوع بیماریهای بدون نشانه است بخصوص در کودکان . ادامه پیدا کردن این بیماری به مدت چندین سال باعث افزایش موارد نشان دار این بیماری در بیماران با سن بالا می گردد در موارد نادری نیز این نوع هپاتیت به یک بیماری حاد و کشنده تبدیل می شود. شناسایی و تشخیص مستقیم هپاتیت A کار مشکلی می باشد . وقتی که ویروس هپاتیت A از طریق مدفوع دفع می گردد خیلی زود دوره این بیماری به پایان می رسد ( قبل از اینکه نشانه های بالینی بیماری ظاهر گردند). مرحله ظهور ویروس هپاتیت A در خون دوره کوتاهی دارد. بنابراین تشخیص سریع مقدار IgG و زمان Serconversion را مشکل می سازد . IgG می تواند بلافاصله بعد از ظهور اولین نشانه های بالینی تشخیص داده شود و معمولاً به مدت دو تا چهار ماه باقی می ماند . در موارد نادری نیز باقی مانده Igm می تواند ۶ تا ۱۲ ماه بعد از عفونت اولیه تشخیص داده شود. در موارد پیشگیری فعال anti-HAVM می تواند در سرم بیماران ۲ هفته پس از تزریق واکسن نیز باقی بماند. تشخیص anti-HAVM به شناسایی هپاتیت A کمک کند اما برای ایجاد حالت ایمنی از طریق واکسن Post کافی نیست.

### روش آزمایش Principle

روش آزمایش تلفیقی از آنزیم دو مرحله ای immunoassay پس از immunocapture همراه با خوانش فلورسانت در مرحله آخر است (ELFA). فاز جامد گیرنده (SPR) قطعه ای به شکل نوک سمپلر است که در تمام طول آزمایش به عنوان محل انجام واکنش بکار می رود. تمام مراحل آزمایش بصورت اتوماتیک توسط دستگاه انجام می شود . پس از



مرحله رقیق سازی I gm موجود در سرم با آنتی بادیهای منوکلونال anti-M chian کد شده در دیواره داخلی SPR ترکیب می شود . قسمت هایی از سرم که با چیزی ترکیب نشده اند توسط شستشو خارج می گردند. Anti-HAV Igm بطور ویژه توسط ترکیب آنتی ژن غیر فعال و آنتی بادی منوکلونال آلکالاین فسفاتاز Anti-HAV کد شده درون SPR شناسائی می گردد. قسمت های ترکیب نشده توسط شستشو شسته و خارج می گردند. در طول مرحله شناسائی آخر سوپسترا (4-methyl-unibeliferil فسفات ) توسط آنزیم کونژوگه تبدیل می شود به (4-methyl-unibeliferon) و فلورسانت در هر استریپ در طول موج 450<sup>nm</sup> اندازه گرفته می شود . شدت فلورسانت متناسب با غلظت Anti-HAV M موجود در نمونه است. در پایان آزمایش جوابها بصورت اتوماتیک توسط وایداس بر طبق استاندارد ذخیره شده در حافظه محاسبه می گردند و پس جوابها بیرون می آیند.

#### Content of the Kit (30 TEAS)

3+ عدد استریپ HAVM	STR	آماده برای مصرف
3+ عدد SPR HAVM	SPR	درون SPR با anti-homan پوشیده شده
کنترل مثبت HAVM (مایع) 2×1ml	C <sub>1</sub>	سرم انسانی + HAV Igm + پروتئین ثابت کننده 1g/l سدیم اسید ، مقدار آن باید در بازه RFV موجود در MLE باشد. Control c <sub>1</sub> (+1) test value Range
کنترل منفی HAVM (مایع) 2×1ml	C <sub>2</sub>	سرم انسانی بدون anti-HAV + پروتئین ثابت کننده 1g/l سدیم اسید، آماده برای مصرف
استاندارد HAVM (مایع) 1×1/2ml	S <sub>1</sub>	سرم انسانی بدون anti-HAV + پروتئین ثابت کننده 1g/l سدیم اسید

1 MLE card	کارت ویژه حاوی اطلاعات لازم برای کالیبراسیون
1 package insert	

### The SPR

درون SPR توسط آنتی بادیه‌های منوکلونال anti-M chain پوشیده شده است هر کدام از SPR ها توسط کد HVAM شناسایی می شوند . فقط تعداد مورد نیاز از SPR ها را از جعبه بیرون آورده و دقت کنید که در زیپ کیف بطور کامل بسته شود.

استریپ شامل ۱+ خانه می باشد که یک فویل تمام خانه ها را پوشانده است روی این فویل اطلاعاتی شامل بارکد که نشان دهنده کد آزمایش می باشد ، شماره سریال کیت ، تاریخ انقضاء کیت می باشد . آن قسمت از فویل که روی خانه اول را پوشانده دارای یک سوراخ می باشد که در واقع جای ریختن نمونه است . آخرین خانه از هر استریپ حاوی محلول سوبسترا است که خوانش فلورومتريک در آن انجام می گیرد. خانه های وسطی از هر استریپ شامل محلولهای مختلف می باشند که برای انجام آزمایش مورد نیازند .

## توضیحاتی راجع به محتویات استریپ HAVM

خانه ها Nell	محلول ها
۱	جای ریختن نمونه
۲	رقیق کننده نمونه: TRIS بافر (0/05mol/l) PH7/4 + پروتئین ثابت کننده شیمیایی 1g/l + سدیم اسید (400ml)
۳-۴-۵-۸-۹	بافر شستشو: TRIS بافر (0/05mol/l) PH7/4 + پروتئین ثابت کننده شیمیایی 1g/l + سدیم اسید (600ml)
۶	آنتی ژن غیر فعال هپاتیت A + پروتئین ثابت کننده شیمیایی 1g/l + سدیم اسید (300m/l)
۷	آنتی بادی منوکلونال anti-HAV + آلکالاین فسفاتاز 1g/l + سدیم اسید (300m/l)
۱۰	کووت همراه با سوپستر 4-methyl-unbelifenyll (0/6 mmol/l) + ۶/۶٪ یا DEA (0/62 mol/l) + 1g/l سدیم اسید (300m/l)

مواردی که بجز کیت باید تهیه کرد

### Material Required But not Provided

سمپلر 100 $\mu$ l

دستکش بدون پودر

## نکات قابل توجه warning and precautions

فقط برای مصارف پزشکی کاربرد دارد. برای مصارف تخصصی کاربرد دارد. این کیت شامل محصولات انسانی است. از SPR های با جعبه سوراخ استفاده نکنید. از SPR هایی که آلودگی جعبه و یا صدمه دیدن آن به وضوح دیده می شود استفاده نکنید. از کیت های تاریخ مصرف گذشته استفاده نکنید. محلول ها از شماره سریال های مختلف را با هم مخلوط نکنید. از دستکش بدون پودر استفاده کنید زیرا پودر باعث جوابهای مثبت یا منفی کاذب در تستهای ایمونولوژی می شود وایداس یا مینی وایداس باید بطور مرتب توسط محلول ۰/۵ درصد هیپوکلرید تمیز شود ( دفترچه user را مطالعه کنید).

## شرایط نگهداری Storage condition

کیت HAVM در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود. محلول ها را فریز نکنید. محلول های استفاده نشده را به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید. بعد از باز کردن کیت و برداشتن مقدار مورد نیاز از SPR از بسته بودن کامل زیپ کیف اطمینان حاصل کنید. چک کنید که زیپ کیف سوراخ یا آسیب دیده نباشد اگر بود از آن SPR ها استفاده نشود پس از استفاده باقی مانده SPR ها را به دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  برگردانید. اگر نگهداری کیت بر طبق شرایط گفته شده باشد تمامی محتویات کیت تا پایان زمان انقضاء نوشته شده روی جعبه کیت پایدار خواهند ماند.

## Specimens type and collection آنوری جمع نحوه و نمونه نوع

سرم یا پلاسما ( لیتیم هپارینه یا EDTA ) توصیه می شود که هر آزمایشگاهی سازگاری نمونه را با تیوب ها چک کند از نمونه های با مشخصات زیر استفاده نکنید:

همولایز ( غلظت هموگلوبین از 0-270 mmol/l )

لیپمیک ( غلظت لیپید از 0-2 mg/ml )

بیلی روبین ( غلظت بیلی روبین از 0-500 mmol/l )

در صورت داشتن چنین نمونه هایی توصیه می شود نمونه جدیدی تهیه کنید از سرم های غیر فعال استفاده نکنید.

## کارت مخصوص وارد کردن اطلاعات کالیبراسیون

### Master lot data entry

قبل از اینکه محلول های جدید از کیت با شماره سریال جدید را بکار ببرید باید کارت ویژه بارکد MLE را در دستگاه وایداس یا مینی وایداس قرار دهید . این کارت درون تمامی جعبه های کیت موجود می باشد در صورت عدم خوانش MLE توسط دستگاه وایداس این سیستم قادر به پرینت جوابها نخواهند بود. برای هر شماره سریالی از کیت مورد نظر فقط کافی است که یکبار کارت MLE به دستگاه وایداس داده شود . این امکان وجود دارد که اطلاعات MLE بصورت اتوماتیک یا دستی به دستگاه داده شود.

## کالیبراسیون calibration

برای کالیبراسیون از محلول استاندارد موجود در کیت استفاده می شود. بعد از خواندن MLE توسط دستگاه هر ۱۴ روز یکبار باید استاندارد به دستگاه داده شود. دادن استاندارد بصورت ۱۴ روز یکبار باعث تأیید نمودار کالیبراسیون ویژه وایداس می شود. همچنین باعث حذف تغییرات و variation در نمودار استاندارد در طول زمان استفاده از کیت می شود. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و بصورت دوبل به دستگاه داده می شود. مقدار این استاندارد باید در بازه نوشته شده در پایین MLE موجود باشد اگر این مقدار خارج از بازه RFV بود باید مجدداً کیت را کالیبر کرد.

## مراحل انجام آزمایش procedure

نیم ساعت قبل از استفاده باید محلولها شامل استاندارد و کنترل، سرم، Strip، SPR های مورد نیاز را از یخچال خارج کرده و اجازه دهید تا به دمای اتاق برسند. برای هر بیمار یک استریپ و SPR قرار دهید و مطمئن شوید که پاکت نقره ای حاوی SPR بعد از باز شدن بطور کامل بسته شده است. کلمه HAVM را در section مورد نظر تایپ کنید. استاندارد توسط  $S_1$  شناخته می شود و باید بصورت دوبل به دستگاه داده شده در صورت نیاز به گذاشتن کنترل مثبت از  $C_1$  و برای کنترل منفی از  $C_2$  استفاده کنید. قبل از ریختن سرم استاندارد و کنترل در خانه اول از هر استریپ به مدت ۱۰ ثانیه آنها را mix کنید میزان حجم مکش برای استاندارد کنترل و سرم 100 $\mu$ l می باشد. استریپ و SPR ها را درون جایگاه های ویژه قرار داده و از هم‌رنگ بودن بر چسب های آنها اطمینان حاصل کنید. دکمه start را فشار دهید تمام مراحل آزمایش بصورت اتوماتیک توسط وایداس انجام می شود. مدت

زمان انجام آزمایش ۶۰ دقیقه می باشد . پس از اتمام آزمایش استریپ و SPR ها را دور بریزید.

## نتایج و نحوه تفسیر آنها Result and interpretation

پس از اتمام آزمایش جوابها بصورت اتوماتیک توسط کامپیوتر وایداس محاسبه می گردند. فلورسانت در دو مرحله اندازه گیری می شود. اولین خوانش مربوط به خوانش زمینه back ground مربوط به سوبسترای خانه آخر است . خوانش دوم قبل از اینکه SPR پایین بیاید و درون خانه آخر برود صورت می گیرد ( هنگامی که سوبسترا باقی مانده آنزیم درون SPR مخلوط می شود). RFV از تفاوت میزان back ground و خوانش دوم محاسبه می گردد این محاسبه بر روی پرینت مربوط به جوابها موجود است وایداس برای هر نمونه میزان دقیق تست را محاسبه می کند این محاسبه در نتیجه نسبت بین RFV و استاندارد موجود در حافظه صورت می گیرد.

$$i = \frac{\text{مقدار تست بیمار RFV}}{\text{استاندارد RFV}}$$

تفسیر	مقدار نسبت
منفی	$i < 0/4$
مشکوک	$i \geq 0/4, i < 0/05$
مثبت	$i \geq 0/5$

توصیه می شود برای چک نمونه های مشکوک از نمونه جدید استفاده کنید. تفسیر جوابها با توجه به تاریخچه بیمار و جواب دیگر آزمایشات صورت می گیرد.

## کنترل کیفی quality control

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی درون هر کیت موجود می باشد . کنترل ها باید بلافاصله بعد از باز کردن کیت جدید مورد استفاده قرار بگیرند . برای چک کردن کالیبراسیون باید از این کنترل ها استفاده شود . دستگاه فقط به اسم  $C_1$  و  $C_2$  این کنترل ها را می شناسد در صورتیکه از تاریخ انقضاء کنترل ها گذشته باشد جوابها معتبر نخواهند بود.



