

۴. صحبت: جهت بررسی صحبت کیت اندازه گیری سطح IgG ضد S1-RBD دیالرست نتایج بدست آمده از تعداد ۲۵۲ نمونه سرمی، با کیت EIA مرجع مقایسه گردید. خلاصه نتایج در جدول زیر آمده است:

کیت اندازه گیری سطح سرمی IgG ضد S1-RBD دیالرست			
	ثبت	مشکوک	منفی
ثبت	۵۰	-	۲
مشکوک	-	۱۴	۲
منفی	۲	۲	۱۸۰

۵. دقیقت: شاخص دقیقت این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP5-A2) (۱۳) ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان IgG ضد S1-RBD ۳ نمونه سرمی با غلطات های مختلف (منفی، مشکوک و ثابت) ۶۰ بار اندازه گیری و انحراف معیار و ضرب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

نمونه	تعداد سنجش	میانگین غلطت (AU/ml)	Within Run		Total	
			SD	%CV	SD	%CV
منفی	۶۰	۰/۵۹	۰/۳۴	۵/۶۶	۰/۴۴	۷/۲۶
مشکوک	۶۰	۰/۹۲	۰/۶۷	۵/۷۴	۰/۷۲	۶/۲۶
ثبت	۶۰	۲/۰۴	۰/۸۳	۴/۰۱	۱/۲۶	۶/۱۵

منابع

- Yan Y, Chang L, Wang L., Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. Rev Med Virol. 2020 Apr 17:e2106. doi: 10.1002/rmv.2106
- Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. Nat Microbiol. 2020;5(4):562-569
- Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020;13:367 (6483):1260-1263
- Hoffman M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell 2020;16:181 (2): 271-280.e8
- Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med 2020 Apr 29
- Tan C-W, Chia W-N, Qin X, Liu P, Chen M-I-C, Tiu C. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. Nat Biotechnol. 2020;38:1073-1078
- Lou B, Li T-D, Zheng S-F, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since exposure and post symptom onset. Eur Respir J 2020 May 19;2000763
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis 2020 Mar 28
- Tuillon E, Bollore K, Pisoni A, et al. Detection of SARS-CoV-2 antibodies using commercial assays and seroconversion patterns in hospitalized patients. Journal of Infection 2020 Jun 3
- US Food and Drug Administration, 2020, Accelerated Emergency Use Authorization for SARS-CoV-2 RBD IgG Test. Device Description and Test Principle <https://www.fda.gov/media/139053/download>
- Shibo Jiang, Christopher Hillyer, Lanying Du. Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. Trends in Immunology, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007>
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of *In Vitro* Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition. NCCLS Document EP25-A. 2009.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP5-A2. 2004.



$$\frac{\text{جذب نوری نمونه کنترل}}{\text{Cut-Off}} = \frac{\text{جذب نوری نمونه کنترل}}{\text{جذب نوری}}$$

Ratio	تفسیر نتایج
کمتر از ۹	منفی
بين ۹-۱۱	مشکوک
بيشتر از ۱۱	ثبت

افرادی که نمونه های سرمی آنها منفی ارزیابی شوند، یا فاقد آنتی بادی های IgG ضد S1-RBD ویروس SARS-CoV-2 هستند و یا مدار این آنتی بادی ها کمتر از سطحی است که مثبت ارزیابی گردد. در خصوص افرادی که نتیجه سروloژیکی آنها مشکوک باشد، اندازه گیری مجدد آنتی بادی این افراد به فاصله چند روز توصیه می گردد و در صورت تایید حجاب مشکوک، بررسی ابتلا به COVID-19 و یا اثر بخشی واکسیناسیون باید با روش های دیگر انجام شود.

نتیجه سروloژیکی مثبت نشان دهنده ابتلا به بیماری COVID-19 و یا اینمی هومورال حاصل از واکسیناسیون است. هرچند نتیجه مثبت تمایزی بین عفونت حاد حاضر و موارد بهبود یافته قابل نیست و نتیجه مثبت ضرورتا به معنای وجود بیماری COVID-19 فعال نمی باشد.

از آنجایی که افراد حامل ویروس در سیر عفونت و بیماری می توانند هم پاسخ آنتی بادی مثبت و هم منفی داشته باشند، نتایج بدست آمده نباید به تنهایی برای تشخیص Infectious بیماری، رد عفونت SARS-CoV-2 و یا اعلام وضعیت عفونت (status) مورد استفاده قرار گیرد.

ویژگی های اختصاصی کیت

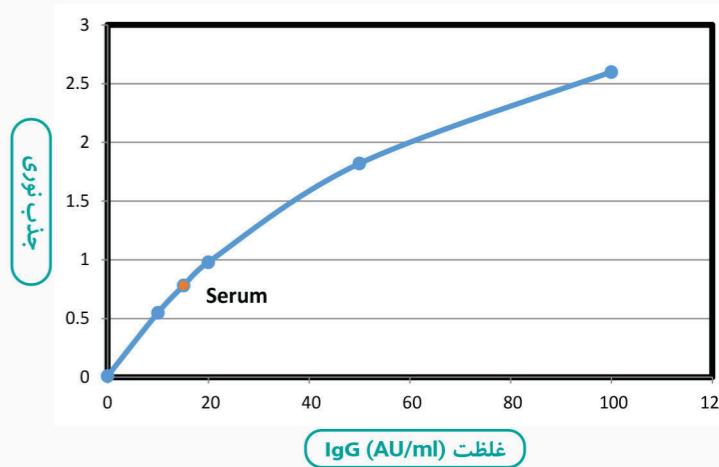
۱. حساسیت کلینیکال: جهت ارزیابی حساسیت کیت IgG ضد S1-RBD زیر واحد S1 سرم ۳۰۵ فرد مبتلا به COVID-19 در هفته های اول بیماری ارزیابی گردید. نتایج به شرح زیر می باشد:

تعداد روزها بعد از بروز علایم بالینی	تعداد کل نمونه های PCR مثبت	حساسیت (%)
کمتر از ۷	۵۷	۳۵/۱
۱۴ تا ۸	۱۶۵	۷۰/۳
بيشتر از ۱۴	۸۳	۹۵/۲

۲. اختصاصیت آنالیتیکال: جهت ارزیابی اختصاصیت کیت IgG ضد S1-RBD زیر واحد S1 سرم ۲۶۴ فرد سالم که سرم آنها حداقل سه ماه قبل از همه گیری COVID-19 جمع آوری شده اند. درنتیجه اندازه گیری گردید. بر اساس نتایج بدست آمده اختصاصیت کیت ۹۸/۱% می باشد. درنتیجه احتمال تداخل با دیگر بتاکروناویروس ها از جمله HKU1 و 229E, NL63, OC43 و H1N1 بسیار اندک است. با این حال ضروری است تفسیر نتایج سروloژیکی مثبت با یافته های بالینی انتباخت داده شود. همچنین نتایج سروloژیکی نمونه سرمی-تجاری حاوی ایمونوگلوبولین G علیه ویروس های Parainfluenza و Influenza A, Influenza B ,Respiratory syncytial و بدن ترتیب آنتی زن S1-RBD بکار رفته در ساختار این کیت با ویروس های فوق تداخل ایمونوگلوبولینی ندارد.

۳. تداخل کلاس ایمونوگلوبولین (Class specificity): نتایج بدست آمده از نمونه سرم های بیماران مبتلا به COVID-19 که حاوی ایمونوگلوبولین های کلاس M, A و F و فاقد ایمونوگلوبولین G هستند، نشان دهنده عدم تداخل این کیت با IgM و IgA ضد S1-RBD است.

نمونه	جذب نوری	میانگین جذب نوری	IgG (AU/ml)	غلظت
استاندارد A	۰/۰۱	۰/۰۱	۰	
	۰/۰۱			
B	۰/۵۵	۰/۵۵	۱۰	
	۰/۵۴			
C	۰/۹۷	۰/۹۸	۲۰	
	۰/۹۸			
D	۱/۷۵	۱/۸۲	۵۰	
	۱/۸۹			
E	۲/۶۱	۲/۶۰	۱۰۰	
	۲/۵۹			
کنترل منفی	۰/۲۹	-	۱۱۰۴	
کنترل مثبت	۰/۹۲	-	۱۸۶۸	
سرم	۰/۷۶	-	۱۵/۱۳	



پیو بررسی های به عمل آمده بر روی سرم افراد مبتلا و سالم، با در نظر گرفتن حساسیت و ویژگی (specificity) کیت ارزیابی ایمونوگلوبولینی کمی Cut off point میانگین مرجز تشخیصی SARS-CoV-2 گردید. بر این اساس نمونه های سرمی در سه گروه به شرح ذیل دسته بندی شدند.

مقدار IgG نمونه	تفسیر نتایج
کمتر از ۹	منفی
۹-۱۱ AU/ml	مشکوک
بيشتر از ۱۱	ثبت

۲. کیفی:

Cut-Off مقدار سپس با استفاده از نسبت به دست آمده (Ratio) طبق جدول زیر نتایج را تفسیر نمایید. بر اساس مرجز تشخیصی Cut-Off تعریف شده نمونه های سرمی در سه گروه به شرح ذیل دسته بندی می گردند.