خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲ شماره ۵ پاییز ۸۴ (۱۸۱-۱۷۱)

بررسی حساسیت نسبی کیت های نسل سوم سنجش آنتی بادی ضد ویروس هپاتیت C به روش الیزا: ارزیابی ۲۰ کیت

دکتر صدیقه امینی کافی آباد[۱]، دکتر علی طالبیان[۲]، دکترمهتاب مقصودلو[۳]، سعیده رمن[۴]

چکیده

سابقه و هدف

مهم‌ترین چالش برای انتخاب کیت‌های سنجش آنتی بادی ضد ویروس هپاتیت C، حساسیت آن است. در این مطالعه ۲۰ کیت (با روش الیزا) با یکدیگر و با کیت مرجع مطابق با توصیه سازمان جهانی بهداشت (Anti-HCV 3.0 Enhanced SAVE) محصول کمپانی ارتو) مقایسه گردیدند.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تشخیصی بوده و۲۰ کیت به وسیله ۳ تا ۴ پانل دگرگونی سرمی و ۲ تا ۳ پانل سطح کارآیی مورد ارزیابی قرارگرفتند. حساسیت نسبی هر کیت طبق توصیه سازمان جهانی بهداشت محاسبه شد.

یافته‌ها

در بررسی با پانل‌های دگرگونی سرمی، حساسیت نسبی ۳ کیت مانند کیت مرجع بوده و ۵ کیت حساسیت نسبی کمتری داشتند، هر چند که تفاوت بین این ۵ کیت و کیت مرجع در ۲ نمونه بود. در پانل‌های سطح کارآیی، ۲ کیت مانند کیت مرجع بوده و ۵ کیت دیگر فقط ۲ نمونه را کمتر از کیت مرجع (Anti-HCV 3.0 Enhanced SAVE) شناسایی کردند. در مجموع پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی، بهترین نتایج را کیت‌های(ETI-AB-HCH-K4(146 ازکمپانی دیاسورین، Monalisa Anti-HCV plus version 2 از کمپانی بایوراد، Hepanostica Anti-HCV ULTRA از تولیدات کمپانی بایومریو، Anti-HCV-EIA 3rd محصول کمپانی مرکز طبی اویسنا وHCV Ab از کمپانی دیاپرو گزارش نمودند.

نتیجه گیری

جهت تامین سلامتی خون، استفاده از کیت‌هایی با حساسیت زیاد توصیه می‌گردد و لازم است به نمونه‌هایی بیشتر توجه شود که دارای واکنش مثبت ضعیف در پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی با تیتر پایین آنتی‌بادی هستند.

کلمات کلیدی: آنتی بادی، ویروس هپاتیت C، الیزا، پانل دگرگونی سرمی، حساسیت

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۰/ ۲
تاریخ پذیرش: ۸۴/ ۳/۲۲

۱- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران- صندوق پستی ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۲- متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- متخصص پزشکی اجتماعی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴- کارشناس علوم آزمایشگاهی- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

مقدمه

تا قبل از سال ۱۹۹۰ ویروس هپاتیت C به عنوان یکی از مهم‌ترین علل هپاتیت nonA-nonB پس از انتقال خون مطرح بود (۱،۲). در سال ۱۹۹۰ با غربالگری خون‌های اهدایی در بسیاری از کشورهای صنعتی و به تدریج در سایر کشورها، بروز عفونت در گیرندگان خون در بسیاری از نقاط جهان کاهش یافت ، هر چند کاملاً حذف نگردید (۲،۳،۴). ویروس هپاتیتC یکی از اعضای خانواده فلاوی ویریده بوده و برای آن حداقل۶ ژنوتیپ شناخته شده است (۵). در سال ۱۹۸۹ پس از شناسایی ویروس و تعیین توالی ژنوم‌آن، اولین نسل کیت‌های شناسایی‌آنتی‌بادی ضدویروس با روش الیزا تولید گردید که کیت نسل اول دارای آنتی‌ژن نوترکیبی ناحیه غیرساختمانی۴[1] ژنوم ویروس بود. حساسیت[2] و ویژگی[3] کیت مذکور کم بود (۳،۶،۷). نسل دوم کیت، با استفاده از آنتی‌ژن‌های نوترکیبی و سنتتیک از ناحیه مرکزی و نواحی غیر ساختمانی NS3 و NS4 تهیه گردید. با استفاده از آنتی‌ژن‌های مذکور حساسیت کیت افزایش قابل توجهی یافت و ویژگی نیز بهتر شد (۸، ۷، ۶ ،۳). نسل سوم کیت‌ها با افزایش بیشتر حساسیت آزمایش همراه بودند و از نواحی وسیع‌تری از آنتی‌ژن‌های هسته وNS3 در تهیه آن‌ها استفاده شده بود، هرچند آنتی ژن ناحیهNS5 نیزاضافه گردید. با افزایش حساسیت آزمایش‌ها، امکان شناسایی عفونت با استفاده از سنجش آنتی بادی بهبود و دوره قبل از دگرگونی سرمی[4] به ۵۰ تا ۶۰ روز رسید. هر چند هنوز نیز لازم است حساسیت آزمایش‌های سنجش آنتی‌بادی افزایش یافته وامکان شناسایی عفونت را در زمان کوتاه‌تری فراهم سازد (۱۰، ۹، ۷، ۶، ۳). حساسیت یک آزمون غربالگری و تشخیصی، نشانگر توانایی آزمایش در شناسایی عفونت درفرد مبتلا در دوره کوتاه‌تر دگرگونی سرمی است (۱۰).

برای غربالگری خون‌های اهدایی و کاهش عفونت با ویروس هپاتیت C، پس از تزریق خون لازم است از کیت‌هایی بهره‌برداری گردد که دارای حساسیت بالا بوده و امکان شناسایی بیماری را در زمان کوتاه‌تری ازآغاز عفونت فراهم نمایند (۳،۷). برای سنجش حساسیت کیت‌ها از پانل‌های دگرگونی سرمی[5] و پانل‌های سطح کارایی[6] استفاده می‌گردد (۱۱،۱۲).

با پیدایش روشNAT[7] و امکان غربالگری خون‌های اهدایی، به‌خصوص پلاسما در مجموعه‌های پلاسمایی، امکان شناسایی عفونت درزمان کوتاه‌تری از آغاز عفونت مقدورشده‌است، ولی همچنان انجام غربالگری خون‌های اهدایی با روش الیزا و سنجش آنتی‌بادی توصیه می‌گردد (۱۳،۱۴).

در این مطالعه ۲۰ کیت از محصولات ۱۹ کمپانی از کشورهای مختلف جهان طی سال‌های ۸۲-۸۰ مورد ارزیابی قرار گرفت.برای ارزیابی از پانل‌های دگرگونی سرمی و پانل‌های سطح کارآیی از محصولات شرکت بوستون بیومدیکا استفاده شد و بر مبنای گزارش شماره ۱، ژانویه سال ۲۰۰۱ سازمان جهانی بهداشت «آزمایش‌های هپاتیت C مشخصات عملی»، بررسی انجام شد (۱۱).

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تشخیصی بود. کلیه کیت‌های سنجش Anti-HCV که در سال‌های ۸۲-۸۰ درخواست شرکت در مناقصه کیت‌های غربالگری بر روی خون‌های اهدایی سازمان انتقال خون را داشتند یا از طریق مرکز تحقیقات آزمایشگاه‌های رفرانس کشورجهت ارزیابی کیفی به سازمان انتقال خون ایران ارسال شده‌بودند تحت بررسی قرار گرفتند.

کیت‌های مورد مطالعه براساس روش آنزیم ایمنواسی طراحی شده بودند. در این روش پس از افزودن نمونه به چاهک میکروپلیت، در صورت وجود آنتی‌بادی ضد ویروس در نمونه، ترکیب آنتی‌ژن- آنتی بادی تشکیل شده و درصورت عدم وجود آنتی‌بادی برعلیه ویروس در نمونه، ترکیب تشکیل نمی‌شود. درمرحله دوم آنتی‌بادی منوکلونال

1-Non-Structural 4 (NS4)
2- Sensitivity
3- Specificity
4- Pre-Seroconversion
5- Seroconversion Panels
6- Performance Panels
7- Nucleic Acid Technology

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

متصل به آنزیم پراکسیداز ترب کوهی (کونژوگه) به هر چاهک افزوده می‌شود، باحضور ترکیب آنتی‌ژن- آنتی‌بادی، کونژوگه به آن متصل می‌گردد. در صورت عدم وجود کمپلکس با شستشوی چاهک، کونژوگه از محیط خارج می‌شود. در مرحله سوم، سیستم سنجش آنزیم که سوبسترا است به چاهک افزوده می‌شود. آنزیم متصل به آنتی‌بادی منوکلونال بر روی سوبسترا، فرایندشیمیایی اعمال نموده که حاصل آن محصول نهایی رنگی است. برای توقف واکنش وقرائت جذب نوری، اسید سولفوریک به هر چاهک افزوده می‌گردد. رنگ محصول نهایی توسط اسپکتروفتومتر قرائت شده و طبق دستورالعمل بروشور هر کیت نتیجه هر نمونه گزارش می‌شود.

کیت‌های سنجش آنتی‌بادی ضد ویروس هپاتیت C

کلیه کیت‌های مورد مطالعه طبق اطلاعات مندرج در بروشور کیت‌ها، از نسل سوم کیت‌های سنجش آنتی‌بادی برعلیه HCV بوده و حاوی آنتی‌ژن‌های ناحیه مرکزی و پروتئین‌های غیر ساختمانی ناحیه ۳، ۴ و ۵ ویروس (NS3, NS4 و NS5) می‌باشند.

مشخصات ۲۰ کیت مورد مطالعه شامل نام کیت، کمپانی تولید کننده، شماره کاتالوگ و نام کشور تولیدکننده در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول شماره ۱ : مشخصات ۲۰ کیت Anti-HCV مورد مطالعه در سال‌های ۸۲-۸۰ در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی سازمان انتقال خون ایران

ردیف	نام کیت	شماره کاتالوگ	کمپانی	کشور
۱	Bioelisa HCV	--------*	Biokit	اسپانیا
۲	ETI-AB-HCV K4(146)	--------*	Diasorin	اسپانیا
۳	ETI-AB-HCV K3 (112)	P000626	Diasorin	اسپانیا
۴	Anti HCV-EIA-3rd Generation	02EM93-2	Avicena Medical Center	روسیه
۵	Monolisa Anti-HCV plus version 2	96:72317 480:72318	BIORAD	فرانسه
۶	HCV Ab	--------*	DIA-PRO	ایتالیا
۷	HCV Ab ELISA	EIA-3427	DRG instruments Gmbh	آلمان
۸	Hepatitis C Virus (HCV)IgG ELISA	AKG0310	Novum Diagnostica	آلمان
۹	HCV ELISA Kits	360-E	IND Diagnostic INC	کانادا
۱۰	HCV EIA Kit	--------*	Asia Lion	چین
۱۱	Rongsheng Anti-HCV ELISA Kit	--------*	SRB Shanghai Rongsheng Biotech co.Ltd	چین
۱۲	INNOVA HCV ELISA TEST Kit	--------*	Span Diagnostics Ltd	هند
۱۳	SD HCV ELISA 3.0	02EK10-02-4	SD Standard Diagnostics INC	کره
۱۴	GENEDIA HCV ELISA 3.0	--------*	Green Cross Life Science Corp	کره
۱۵	INNO-LIA-HCV Score	--------*	INNOGENETIC NV	بلژیک
۱۶	HCV Cinnascreen	--------*	Cinnagen	ایران
۱۷	HEPANOSTICA Anti-HCV ultra	--------*	BIOMERIEUX	هلند
۱۸	SP-NANBASEC-96 3.0	4NAES	GENERAL BIOLOGICAL CORP	تایوان
۱۹	HCV Ab	--------*	TIRINITY	آمریکا
۲۰	HCV Ab	--------*	ICGEB	هند

*** در بروشور کیت، شماره کاتالوگ محصول ذکر نشده است.**

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

جدول شماره ۲: مشخصات پانل‌های مورد استفاده در ارزیابی کیت‌های مورد بررسی در این مطالعه

ردیف	شماره پانل	نام پانل	تعداد ویال موجود
۱	PHV104	Anti-HCV Low Titer Performance Panel	۱۲
۲	PHV105	Anti-HCV Low Titer Performance Panel	۱۵
۳	PHV204	Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel	۲۵
۴	PHV905	Hepatitis C seroconversion panel HCV GENOTYPE 1a	۹
۵	PHV906	Hepatitis C seroconversion panel HCV GENOTYPE 1b	۷
۶	PHV908	Hepatitis C seroconversion panel HCV GENOTYPE 1a	۱۳
۷	PHV914	Hepatitis C seroconversion panel HCV GENOTYPE 2b	۹

پانل‌های دگرگونی سرمی و پانل‌های سطح کارآیی

در بررسی کیت‌های سنجش آنتی‌بادی ضد ویروس هپاتیت C، ۳ تا ۴ پانل دگرگونی سرمی و۲ تا ۳ پانل تعیین سطح کارآیی مورد استفاده قرار گرفت. هر پانل دگرگونی سرمی شامل یک سری نمونه است که در یک دوره زمانی به شکل متوالی از یک فرد مبتلا به عفونت با پیدایش و توسعه آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های مختلف ویروس تهیه می‌گردد (۱۱). پانل‌های سطح کارآیی، پانل‌هایی هستند که از افراد مختلف دارای مقادیر پایین آنتی‌بادی ضد ویروس، تهیه شده است.

مشخصات هر پانل شامل شماره سری، نام پانل و تعداد عضو هر پانل در جدول شماره ۲ ذکر شده است.

نحوه ارزیابی آزمایش‌ها

سازمان جهانی بهداشت، کیت سنجش آنتی‌بادیHCV محصول کمپانی ارتو با نام Ortho HCV 3.0 Enhanced SAVE را به عنوان کیت مرجع توصیه می‌کند(۱۱). پانل‌ها با کیت مرجع مورد آزمایش قرار گرفتند.

در هر پانل دگرگونی سرمی، اولین نمونه در مجموعه نمونه ها که در آزمایش با کیت Anti-HCV 3.0 Enhanced SAVE مثبت بود، به عنوان ارزش صفر در نظر گرفته شد و نتایج بررسی کیت مورد مطالعه با این نمونه مقایسه گردید، به عنوان مثال اگر ۲ نمونه زودتر از نمونه با ارزش صفر در مقایسه با کیت مرجع مثبت شد امتیاز ۲- گرفت، (به ازای هر نمونه، یک امتیاز) و اگر یک نمونه بعد از نمونه با ارزش صفر در کیت مرجع مثبت شد، امتیاز ۱+ به آن تعلق گرفت. بنابراین امتیاز باعلامت منفی دلالت بر حساسیت نسبی بیشتر و علامت مثبت دلالت بر حساسیت نسبی کمتر دارد (۱۱).

در بررسی با پانل‌های سطح کارآیی، نتایج حاصله با نتایج آزمایش با کیت مرجع(که با آزمون تأییدی یا تکمیلی Chiron HCV RIBA نیز مثبت بوده است) مورد مقایسه قرار گرفت و تعداد نمونه‌هایی که هر یک در مقایسه با کیت مرجع مثبت یا منفی بودند، گزارش شد.

برای حساسیت‌های به‌دست آمده با استفاده از محاسبه آماری حدود اطمینان ۹۵٪ تعیین شد.

یافته‌ها

نتایج آزمایش‌های کیت‌های مورد مطالعه با پانل‌های دگرگونی سرمی(۱۵ کیت با ۴ پانل و ۵ کیت با ۳ پانل) وپانل‌های سطح کارآیی (۱۵ کیت با ۳ پانل و ۵ کیت با ۲ پانل)، شامل نتایج آزمایشگاه‌های کنترل کیفی سازمان انتقال خون در مقایسه با نتایج آزمایش‌ها با کیت مرجع در جدول۳ ذکر شده است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

جدول ۳ : تعداد نمونه مثبت هر پانل در کیت مرجع، در ۱۵ کیت با ۴ پانل دگرگونی سرمی و ۳ پانل سطح کارایی و ۵ کیت با ۳ پانل دگرگونی سرمی و ۲ پانل سطح کارآیی که درآزمایشگاه‌های کنترل کیفی سازمان انتقال خون انجام شده است

شماره پانل	تعداد کل نمونه درهر پانل	تعداد نمونه مثبت درکیت مرجع Anti-HCV 3.0 SAVE	BIOKIT	DIASORIN 146	DIASORIN 112	AVICENNA	NOVUM	IND	ASIA LION	SRB	SPAN DIAGNOSTICS	INNOGENETICS	GREEN CROSS	GENERAL BIOLOGICAL	CINNA GEN	BIOMERIEUX	STANDARD DIAGNOSTICS
PHV905	۹	٤	۳	۴	۰	٤	۲	۵	۲	۲	۳	۲	۲	٤	٤	٤	۲
PHV906	۷	۷	٤	۷	۵	٦	۰	۷	۲	۷	۲	۷	۵	۷	۷	۷	۵
PHV908	۱۳	۸	۰	۸	۲	۹	۰	۸	٤	٤	۰	۷	۰	۷	۰	۸	۰
PHV914	۹	۵	۵	۵	۵	۵	۱	۳	۵	۵	۵	۳	۵	۵	۵	۵	۳
PHV104	۱۵ نمونه که تعداد ۵ نمونه در دسترس نبوده است.	۹	۹	۹	۹	۸	۲	۹	٤	۹	۸	۹	۸	۹	۹	۹	۸
PHV105	۱۵	۱٤	۹	۱٤	۹	۱۳	۲	٦	۱۲	۱۰	۲	۱٤	۷	۷	۱۲	۱۳	۸
PHV205	۲۵	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۱۱	۲۳	۲۲	۲۳	۲۰	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳

شماره پانل	تعداد کل نمونه درهر پانل	تعداد نمونه مثبت درکیت مرجع Anti-HCV 3.0 SAVE	BIORAD	DIA PRO	ICGEB	TIRINITY	DRG
PHV905	۹	٤	۲	٤	٤	۳	۳
PHV906	۷	۷	۷	٦	۳	۳	۵
PHV908	۱۳	۸	۸	۸	۰	۰	۹
PHV105	۱۵	۱٤	۱۳	۱۳	۱۰	۹	٦
PHV205	۲٤	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۲۱	۲۲

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

نتایج بررسی پانل‌های دگرگونی سرمی، شامل تعداد کل نمونه های مثبت در هر کیت در مقایسه با نمونه های مثبت در کلیه پانل‌های تغییرات سرمی در کیت مرجع بـا فاصـله اطمینان ۹۵٪ ، دوره پنجره تغییرات سرمی نسبت بـه مثبـت شدن آزمایش با روش ملکولی تکثیر ژنوم ویروسی[1] در هر کیت و نتایج مقایسه تعداد نمونه مثبت به کل نمونـه هـای مثبت در هر کیت با پانل‌های سطح کـارآیی در مقایسـه بـا نتایج آزمایش‌های کیت مرجع درجدول ۴ بیان شده است.

جدول ۴ - خلاصه نتایج بررسی ۱۵ کیت با ۴ پانل دگرگونی سرمی و۳ پانل سطح کارآیی و ۵ کیت با ۳ پانل دگرگونی سرمی و۲ پانل سطح کارآیی

نام کیت مورد مطالعه Anti-HCV	BIOKIT	DIASORIN 146	DIASORIN 112	AVICENNA	NOVUM	IND	ASIA LION	SRB	SPAN DIAGNOSTICS	INNOGENETICS	GREEN CROSS	GENERAL BIOLOGICAL CORP	CINNA GEN	BIOMERIEUX	STANDARD DIAGNOSTICS
تعداد نمونه مثبت موجود در ۴ پانل دگرگونی سرمی در هر کیت (۲۴ نمونه مثبت در کیت مرجع)	۱۲	۲۴	۱۲	۲۴	۳	۲۳	۱۴	۱۸	۱۰	۱۹	۱۲	۲۳	۱۶	۲۴	۱۰
فاصله اطمینان ۹۵٪ (درصد)	۳۱-۶۹	۱۰۰	۳۱-۶۹	۱۰۰	-۱-۲۵	۸۷-۱۰۰	۳۸-۷۸	۵۸-۹۲	۲۲-۶۲	۶۳-۹۵	۳۱-۶۹	۸۷-۱۰۰	۴۷-۸۵	۱۰۰	۲۲-۶۲
محدوده دوره پنجره مثبت شدن در پانل‌های تغییرات سرمی (روز)	*-۱۰	۰-۱۴	۱۶-۴۵	۲-۱۸	۲۲-۴۴	۰-۲۴	۱۴-۳۵	۰-۳۵	۱۶-۴۹	۰-۲۵	۷-*	۰-۲۵	۰-*	۰-۱۹	۷-۴۹
تعداد نمونه مثبت موجود در ۳ پانل سطح کارآیی (۴۶ نمونه)	۴۱	۴۶	۴۱	۴۴	۱۵	۳۸	۳۸	۴۲	۳۰	۴۶	۳۸	۳۹	۴۴	۴۵	۳۹

نام کیت مورد مطالعه Anti-HCV	BIORAD	DIA PRO	ICGEB	TIRINITY	DRG
تعداد نمونه مثبت در ۳ پانل دگرگونی سرمی در هر کیت (۱۹نمونه مثبت درکیت مرجع)	۱۷	۱۸	۷	۶	۱۷
فاصله اطمینان۹۵٪ (درصد)	۷۷-۱۰۰	۸۵-۱۰۰	۱۵-۵۹	۱۰-۵۲	۷۷-۱۰۰
محدوده دوره پنجره مثبت شدن در پانل‌های تغییرات سرمی (روز)	۰-۲۵	۲-۱۹	*-۱۴	*-۱۴	۷-۲۱
تعداد نمونه مثبت در ۲ پانل سطح کارآیی (۳۷ نمونه)	۳۶	۳۶	۳۳	۳۰	۲۸

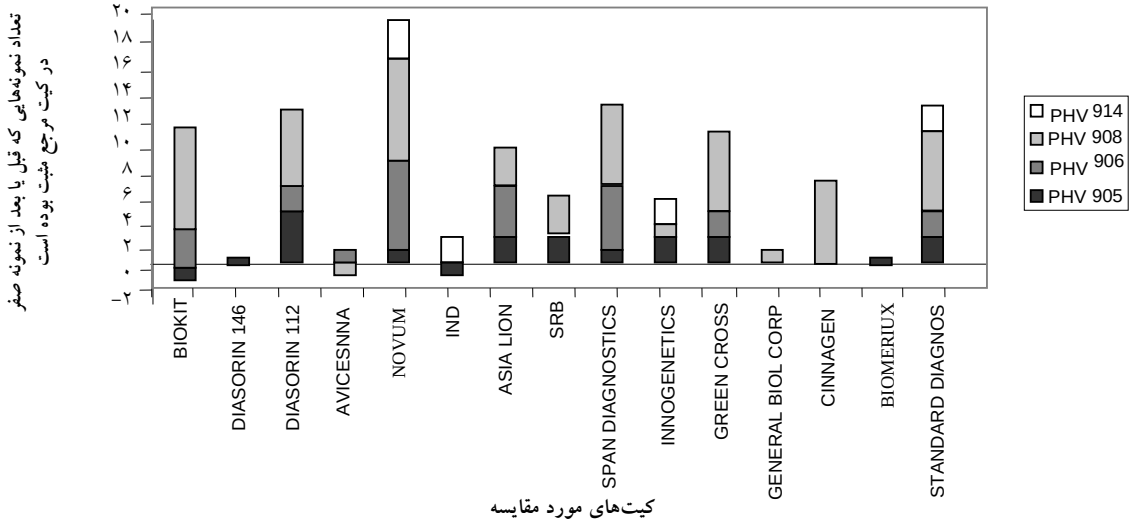
*- به علت این که کلیه نمونه‌های موجود در یک پانل همگی منفی‌گزارش شده‌اند، تعیین زمان حداکثر برای دوره دگرگونی سرمی مقدور نمی‌باشد.

1- Polymerase Chain Reaction (PCR)

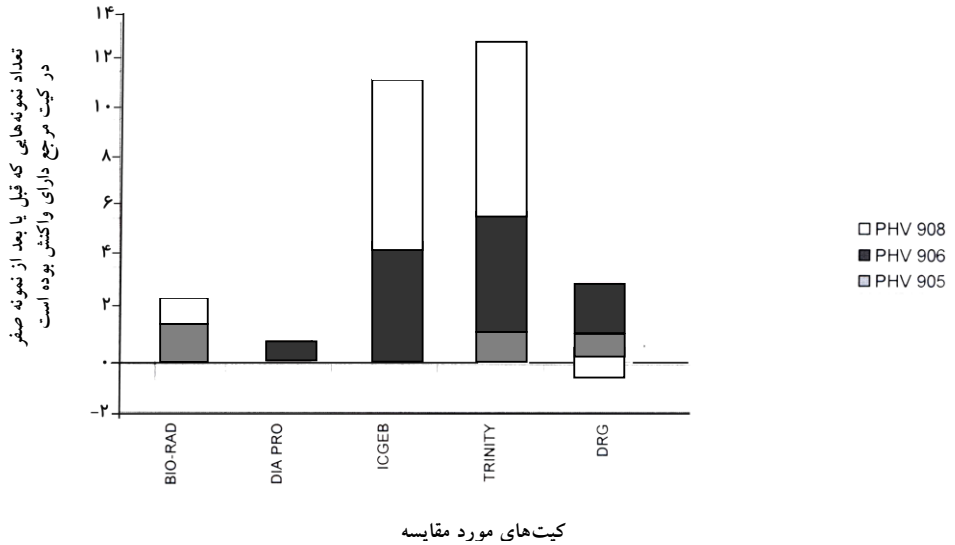
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

در۴ پانل دگرگونی سرمی و۳ پانل سطح کارایی به‌ترتیب ۳۸ (در روشPCR) و۴۶ نمونه مثبت‌وجودداشته که در کیت مرجع Anti-HCV 3.0 Enhanced SAVE به ترتیب ۲۴ و ۴۶ نمونه مثبت گزارش شده است. در سه پانل دگرگونی سرمی و دو پانل سطح کارآیی‌به‌ترتیب ۲۹(درروش PCR) و۳۷ نمونه مثبت بوده که در کیت مرجع به‌ترتیب ۱۹و۳۷ نمونه مثبت‌گزارش‌شده‌است.

نتایج حساسیت نسبی در پانل‌های دگرگونی سرمی نسبت به کیت مرجع درنمودارهای۱و۲ نشان داده شده و برمبنای دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت محاسبه شده است(۱۱).



نمودار ۱: حساسیت نسبی ۱۶ کیت در مقایسه با کیت مرجع (Ortho HCV 3). کیت‌هایی که در مقایسه با کیت مرجع دارای امتیاز صفر هستند دارای حساسیت نسبی معادل و کیت‌هایی که دارای امتیاز مثبت هستند دارای حساسیت نسبی کمتری هستند.



نمودار ۲: مقایسه حساسیت نسبی ۵ کیت با کیت مرجع (Ortho HCV 3). کیت‌هایی که دارای امتیاز صفر هستند دارای حساسیت نسبی معادل کیت مرجع هستند. کیت‌هایی که دارای امتیاز مثبت هستند دارای حساسیت کم‌تری بوده و هرچه امتیاز بالاتر باشد حساسیت نسبی کمتر است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

بحث

هیچ یک از کیت‌های مورد مطالعه دارای حساسیت نسبی بالاتری در مقایسه با کیت مرجع نبوده‌اند ولی سه کیت دارای حساسیت نسبی معادل کیت مرجع بوده که شامل کیت ETI-AB-HCH-K4(146) یکی از دو محصول کمپانی دیاسورین، کیت نسل سوم Anti-HCV-EIA محصول کمپانی مرکز طبی اویسنا و کیت هپانوستیکا اولترا Anti-HCV محصول کمپانی بایومریو بود (نمودارهای ۱ و۲). بعد از این گروه کیت، گروهی قرار می‌گیرند که در مجموع پانل‌های مورد آزمایش فقط ۲ ویال کمتر از کیت مرجع مثبت گزارش شده‌اند و محصولات کمپانی INC دیاگنوستیکا IND، بایوراد، بایولوژیکال کورپ جنرال، DRG و دیاپرو بوده‌اند. سایر کیت‌های مورد مطالعه دارای عدم توانایی سنجش آنتی‌بادی ضد ویروس هپاتیت C در پانل‌های دگرگونی سرمی از ۳ ویال تا ۲۰ ویال نسبت به کیت مرجع بوده‌اند (نمودارهای ۱و۲).

در پانل‌های سطح کارایی که پانل‌هایی با تیتر پایین آنتی‌بادی ضد ویروس هپاتیت C هستند، از ۴۶ و ۳۷ نمونه‌ای که در کیت مرجع مثبت شده است، کیت های دیاسورین ۱۴۶ واینوژنتیک NV کلیه نمونه ها را مثبت گزارش نموده است. درگروه دوم کیت‌هایی قرار می گیرند که حداکثر تا دو نمونه کمتر از کیت مرجع را مثبت گزارش کرده‌اند و شامل کیت‌های کمپانی مرکز طبی اویسنا، بایوراد، دیاپرو، سیناژن و بایومریو می‌باشند. سایر کیت‌ها بیش از ۲ نمونه و حتی تا ۳۱ نمونه را که در کیت مرجع مثبت بوده است، مثبت گزارش نکرده‌اند. برای ارزیابی کیت‌ها لازم است مجموعه دو گروه پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی مورد مطالعه قرار گیرند. چنان که در دو سری نتایج به‌دست آمده، کیت‌های ETI- AB– HCH– K4 (146) از کمپانی دیاسورین، مونالیزا Anti-HCV plus version 2 از کمپانی بایوراد، هپانوستیکا اولترا–Anti HCV ازتولیدات کمپانی بایومریو و Anti – HCV–EIA3rd محصول کمپانی مرکز طبی اوسینا وHCV Ab از کمپانی دیاپرو در مجموع پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی، بهترین نتایج را گزارش نموده‌اند.

سازمان جهانی بهداشت در گزارش ژانویه ۲۰۰۱، نتیجه مطالعه بر روی کیت های سریع با استفاده از پانل‌های خود، دگرگونی سرمی و سطح کارایی انجام شده را منتشر کرده است. در این مطالعه از کیت‌های روش الیزا استفاده نشده است (۱۱). دربررسی بر روی کیت‌های Anti-HCV توسط کنسرسیوم بین المللی سلامت خون، از ۲۰۰ نمونه مثبت برای تعیین‌حساسیت استفاده شده است. نمونه‌ها از کشورهای مختلف جمع‌آوری شده و ژنوتیپ‌های متفاوت HCV را در برمی‌گیرد. تمامی نمونه‌ها با کیت‌های نسل‌سوم محصول شرکت ارتو با روش‌های الیزا وRIBA مثبت بوده ونسبت جذب نوری نمونه به حد بحرانی بیش از ۴ بوده است. بنابراین از نمونه‌های آنتی‌بادی با تیتر پایین یا نمونه‌های دگرگونی سرمی استفاده نشده است. طبق این مطالعه حساسیت کیت‌های INNOVA HCV ELISA TEST، GENEDIA HCV ،ELISA 3.0 KIT ELISA TEST و3rd Anti-HCV-EIA از کمپانی‌های گرین کراس لایف، ساینس کورپ، اسپن دیاگنوستیکا و مرکز طبی اویسینا به‌ترتیب ۹۹/۵٪، ۹۹٪ و۱۰۰٪ گزارش شده است (۱۵). در برخی از مطالعات کیت‌ها فقط با استفاده از نمونه اهدا کنندگان یا بیماران مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند، نمونه‌های اهداکنندگان یا بیماران هم‌زمان با هردو کیت یا چندین کیت آزمایش شده و از پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارایی استفاده نشده است (۱۶، ۱۰–۸).

با توجه به اهمیت شناسایی هرچه سریع‌تر عفونت با ویروس هپاتیت C در غربالگری خون‌های اهدایی، انتخاب کیت دارای حساسیت بیشتر جهت کاهش احتمال ابتلا به هپاتیت C در گیرنده‌های خون از اهمیت بسیاری برخوردار است(۱۷، ۶).

در طی سال‌ها جهت افزایش ضریب سلامتی خون، کیت‌های نسل جدید غربالگری تولید شدند و یا روش‌های جدیدی مانند شناسایی ژنوم ویروس به مراکز انتقال خون معرفی شدند (۲۰–۱۸، ۶). برای ارزیابی حساسیت کیت، پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی تولید شدند و مراکزی مانند سازمان جهانی بهداشت، پل ارلیخ و مدیریت غذا و داروی آمریکا استفاده از آن‌ها را جهت ارزیابی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

کیت‌های غربالگری و تشخیصی توصیه نمودند (۲۲، ۲۱، ۱۱).

هر چند حساسیت و ویژگی آزمایش از اهمیت بسیاری برخوردار است، اما سایر مشخصات کیت مانند تجهیزات مورد نیاز، تعداد آزمون‌های قابل انجام در هر سری آزمایش، زمان انجام آن، درجه حرارت ذخیره‌سازی کیت، تعدادکنترل موردنیاز در هرسری آزمایش، تعداد انکوباسیون در هر نوبت آزمایش، نیاز به تهیه رقت از نمونه برای آزمایش و بالاخره قیمت هر آزمایش درارزیابی کیت مدنظر قرار می گیرد و بر اساس آن امتیاز بندی می‌شود (۱۱).

در این مطالعه حساسیت نسبی کیت‌هایی مورد بررسی قرار گرفتند که تعدادی توسط مراکز تولید کیت یا مراکز معتبر بین‌المللی ارزیابی شده بودند. در این مراکز کیت‌های مورد مطالعه، تحت بررسی‌های متنوعی قرار می‌گیرند، از جمله حساسیت، ویژگی، تکرارپذیری، پایداری وسایر مشخصات کیت‌ها ارزیابی می‌گردند و در صورت احراز مشخصات لازم، گواهینامه مصرف و نوع مصرف آن‌ها اعلام می‌شود. در صورتی‌که کیت قبلاً توسط مراکز معتبر بین‌المللی ارزیابی نشده باشد باید حساسیت آن (نه حساسیت نسبی) اعلام گردد. برای تعیین حساسیت حداقل ۳۰ پانل تغییر سرمی وسطح کارآیی توصیه شده‌است (۲۱).

هر چند برای تعیین حساسیت نسبی که در این مطالعه مد نظر قرار گرفته است استفاده از پانل‌های بیشتر امکان ارزیابی دقیق‌تری را فراهم می‌سازد.

نتیجه‌گیری

جهت تأمین سلامت خون، استفاده از کیت‌هایی با حساسیت زیاد توصیه می‌گردد و لازم است به نمونه‌هایی بیشتر توجه شود که دارای واکنش مثبت ضعیف در پانل‌های دگرگونی سرمی و سطح کارآیی با تیتر پایین آنتی‌بادی هستند.

نتایج بررسی کیت‌های مورد مطالعه بر مبنای کیت‌های دریافت شده در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی ستادی سازمان انتقال خون بوده ولذا سایر مراکز می‌توانند برمبنای وضعیت زنجیره سرد کیت دریافتی، تجهیزات و نمونه‌ها، نتایجی متفاوت با این نتایج به‌دست آورند.

این نتایج دلیل تأیید یک کیت برای بهره‌برداری در آزمایشگاه نبوده و فقط تأییدیه‌های آزمایشگاه‌های تحقیقات رفرانس کشور مجوزی جهت مصرف کیت در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از آقایان علی سلیمانی فریز هندی و کامران عطاردی کارشناسان آزمایشگاه‌های کنترل کیفی سازمان انتقال خون تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

References :

1- Courouce AM, Janot CH. Recombinant immunoblot assay first and second generations on 732 blood donors for antibodies to hepatitis C virus by ELISA. Vox Sang 1991; 61: 177-80.
2- Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. J of Viral Hepat 2002; 9: 84-100.
3- Vrielink H, Reesink HW, van den Burg PJ, *et al*. Performance of three generations of anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assay in donors and patients. Transfusion 1997; 37(8): 845-52.
4- Dodd RY, Notari EP, and Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. Transfusion 2002; 42(8): 966-72.
5- Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th ed. New York: W.B. Saunders; 2001.
6- dos Santos VA, Azevedo RS, Camargo ME, Alves VAF. Serodiagnosis of Hepatitis C Virus. Am J Clin Pathol 1999; 112: 418-24.
7- Goncales NSL, Costa FF, Vassallo J, Goncales FL. Diagnosis of hepatitis C virus in Brazilian blood donors using a reverse transcriptase nested polymerase chain reaction: comparison with enzyme immunoassay and recombinant protein immunoblot assay. Rev Ins Trop S Paulo 2000; 42 (5): 263-7.
8- Anderson SC, Hathaway T, Kuramoto IK, *et al*. Comparison of two second-generation anti-hepatitis C virus ELISA on 21431 US blood donor samples. J Viral Hepat 1995; 2(1): 55-61.
9- Ferrer F, Candela MJ, Garcia C, Martinez L, Rivera J, Vicente VA. Comparative study of two third-generation anti-hepatitis C virus ELISAs. Haematologica 1997; 82(6): 690-1.
10- Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer I, Bailly F, and Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assay: an analysis of the literature. J of Viral Hepat 2001; 8: 87-95.
11- Blood safety and clinical technology. Hepatitis C assays: operational characteristics. Available at: http:/ /WHO.com. 2001
12- Zaaijer HL, Verielink H, and Koot M. Early detection of hepatitis B surface antigen and detection of HBsAg mutants: a comparative of five assays. Vox Sang 2001; 81: 219-21.
13- Operskalaski EA, Mosley JW, Tobler LH, *et al*. HCV viral load in anti-HCV-reactive donors and infective for their recipients. Transfusion 2003; 43(10) : 1433-41.
14- Laperche S, Bouchardeau F, Maniez M, Beolet M, Elghouzzi MH, Lefrere. Nucleic acid testing in blood donations reactive to hepatitis C virus antibody, but with an extremely low viral lowed. Vox sang 2004: 86(3): 198.
15- Evaluation results of some commercially available anti-HCV test kits used in countries with limited resources. Available at: http://www.icbs-web.or/page 28.html. Accessed Feb 24, 2005.
16- Deguchi M, Kagita M, Yamashita N, *et al*. Comparison of eight screening tests for ant-HCV antibody. J of Kansenshogaku Zasshi 2002; 76(9): 711-20.
17- Gerlich WH, and Caspari G. Hepatitis viruses and the safety of blood donations.J of Viral Hepat 1999; 6(Suppl 1): 6-15.
18- Lelie PN, Harry AJ, van Drimmelen H, *et al*. Sensitivity of HCV RNA and HIV RNA blood screening assays. Transfusion 2002; 42: 527-36.
19- Allian JP. Genomic screening for blood-borne viruses in transfusion settings. Clin Lab Haem 2000; 22: 1-10.
20- Linden JV, Bianco C. Blood safety and surveillance. 1st ed. New York: Marcel Decker; 2001.
21- Paul-Ehrlich-Institute. Screening assays: antiHIV1/2, antiHTLV1/2, antiHCV, HBsAg, antiHBc. 2000; [Table 10]. Available at: http://www.pei.de/ivd/table 1to10.pdf. Accessed December 14, 2004.
22- U.S. Food and Drug Administration. Premarket approval applications for in vitro diagnostic devices pertaining to Hepatitis C viruses (HCV): assay intended for diagnosis, prognosis, or monitoring of HCV Infection, Hepatitis C, or other HCV-associated disease; Draft Guidance for Industry and FDA. 2001; Available at: http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/ 1353.pdf.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

Relative sensitivity of third generation hepatitis C virus antibody detection assays: evaluation of 20 kits

Amini Kafi-Abad S.[1](MD),Talebian A.[1](MD), Maghsudlu M.[1](MD), Raman S.[1](MS)

[1]*Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center*

Abstract

Background and Objectives
The most important challenge in selecting suitable assays for the detection of anti-HCV is sensitivity. In this study, 20 assays (EIA method) were compared with each other and with anti-HCV 3.0 Enhanced SAV (Ortho Company production) as the reference assay recommended by WHO.

Materials and Methods
20 kits were compared by 3 to 4 seroconversion and 2 to 3 performance panels. The relative sensitivity of kits was calculated based on WHO recommendations.

Results
In seroconversion panels, relative sensitivity of 3 assays was the same as the reference assay and 5 assays showed lower relative sensitivity, but the differences between these five kits and the reference assay appeared just in two samples. In performance panels, two assays came out to be the same as the reference assay and the other 5 assays detected just 2 samples to have a level lower than anti-HCV 3. In all seroconversion and performance panels, the best results were obtained by ETI-AB-HCH-K4 (146) (Diasorin), Monalisa Anti-HCV plus Version 2 (BIO-RAD), Hepanostica Anti-HCV ULTRA (BIOMERIEUX), Anti-HCV-EIA 3rd (Avicenna Medial Center), and HCV AB (DIA PRO).

Conclusions
For improvement of blood safety, the assay with high sensitivity is recommended to be used, and the samples with weak positive reactions especially in seroconversion and low titer performance panels should be given more attention.

Key words: Antibody , Hepatitis C, Elisa, Sensitivity, Seroconversion panel
SJIBTO 2005; 2(5):171-181

Received: 22 Dec 2004
Accepted: 12 Jun 2005

Correspondence: Amini Kafi-Abad S., Pathologist, IBTO-Research Center
P.O.Box : 14665-1157; Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601559; Fax : (+9821) 88601559
E-mail: *amini@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]