REPUBLIKA E KOSOVËS-REPUBLIKA KOSOVA-REPUBLIC OF KOSOVA
QEVERIA E KOSOVËS-VLADA KOSOVA-GOVERNMENT OF KOSOVA
MINISTRIA E SHËNDETËSISË-MINISTARSTVO ZDRAVLJA-MINISTRY OF HEALTH
Njësia Org. / Org.Jedinica / Org Unit 02
Nr.Prot: / Broj Prot. / Prot.No: 05-5029
Nr.i faqeve / Br.stranica / No.pages -14-
Data: / Datum: / Date: 15/07/2026
Prishtinë / a

Republika e Kosovës
Republika Kosova-Republic of Kosovo
Qeveria-Vlada-Government
Ministria e Shëndetësisë/Ministry of Health/Ministarstvo Zdravstva

PROCEDURA STANDARDE OPERATIVE/PSO

EMRI I PSO: TESTI PËR DETEKTIMIN KUALITATIV TË ANTITRUPAVE "C" (HBcAb) NDAJ VIRUSIT TË HEPATITIT B NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE (METODA MANUALE ELISA, METODA E AUTOMATIZUAR CHEMILUMINISCENCE – PLRFRSVP07/V1.0)

PËRMBAJTJA: DOKUMENTI PËRFSHIN HAPAT KRYESORË TË PËRGATITJES SË MOSTRËS, APLIKIMIT TË METODËS DHE INTERPRETIMIT TË REZULTATIT, DUKE SIGURUAR QË TESTIMI TË KRYHET NË MËNYRË TË SAKTË DHE TË STANDARDIZUAR PËR DETEKTIMIN CILËSOR TË ANTITRUPAVE NDAJ VIRUSIT TË HIV NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE

VERSIONI:1.0
DATA E APROVIMIT:15.07.2026.
AUTOR: MSH/IKSHPK
NR. I HAPAVE: XIII
NR. I NËNHAPAVE: 55

APROVUAR: Jahë Gecaj
U.D. Sekretar i Përgjithshëm, Ministria e Shëndetësisë

V.V

REPUBLIKA E KOSOVËS - REPUBLIKA KOSOVA - REPUBLIC OF KOSOVA - GOVERNMENT OF KOSOVA - MINISTRIA E SHËNDETËSISË - MINISTARSTVO ZDRAVLJA - MINISTRY OF HEALTH
Prishtinë / a

QËLLIMI	QËLLIMI I KËSAJ PSO ËSHTË TË PËRCAKTOJË NË MËNYRË TË QARTË HAPAT QË DUHET NDJEKUR PËR TË KRYER DETEKTIMIN KUALITATIV TË ANTITRUPAVE "C" (HBCAB) NDAJ VIRUSIT TË HEPATITIT B NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE PËRMES METODAVE ME TEKNIKA IMUNOLOGJIKE, MANUALE DHE AUTOMATIKE. KA PËR QËLLIM TË NDIHMOJË NË DIAGNOZEN DHE MENAXHIMIN E PACIENTEVE LIDHUR ME INFEKSIONIN E PACIENTEVE ME VIRUSIN E HEPATITIT B. RESPEKTIMI STRIKT I PROTOKOLIT TË ANALIZËS, PËRFSHIRË PIPETIMIN E SAKTË, RESPEKTIMIN E PROTOKOLIT TË TESTIMIT NË MËNYRËN E DUHUR DHE KOHËZGJATJEN E SAKTË TË HAPAVE TË INKUBIMIT ËSHTË THELBËSOR PËRREZULTATE TË BESUESHME.
NDËRLIDHJA ME AKTET	DORACAKU PËR MENAXHIMIN E CILËSISË NË LABORATORË, 2025; LIGJI NR. 08/L-200 PËR PARANDALIMIN DHE KONTROLLIN E SËMUNDJEVE NGJITËSE; PLANI STRATEGJIK KOMBËTAR PËR LABORATORE 2024-2030; PSO PËR ASGJËSIMIN E MBETURINAVE MEDICINALE –MSH, GUSHT 2023; PSO DEKONTAMINIMI NË RASTE TË DERDHJES SË MATERIALIT TË RREZIKSHËM DHE RREZIQEVE TJERA TË LABORATORIT; PSO- ZBATIMI I MASAVE TË BIOSIGURISË PËR MBROJTJE PERSONALE (BIO-P01-V1.0) PSO- PËRDORIMI DHE MIRËMBAJTJA E INKUBATORIT NË LABORATOR (BIO-P02-V1-0).
LISTA E SHKURTESAVE	ELISA - ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY CLIA - CHEMILUMINESCENCE HBCAB - ANTITRUPAT NDAJ ANTIGJENIT "C-CORE" TË VIRUSIT TË HEPATITIT B NC – KONTROLLA NEGATIVE OD - VLERA E ABSORBANSËS NË MIKROLEXUESIN E PLLAKËS ELISA RLU – NJËSI RELATIVE E DRITËS PPM – PAJISJET PERSONALE MBROJTËSE; TMB – TRETJE E TETRAMETIL BENZIDINËS.

PROCEDURA

Nr.	HAPI	NËN-HAPAT
[I]	Zbatimi i masave për menaxhim të mostrave	1. Mostra merret nga infermieri në klinikë ose nga laboranti në zyrën e pranimit; 2. Mostra transportohet nga laboranti në zyrën e pranimit deri në laborator; 3. Pranimi, ndarja, procedura e testimit dhe ruajtja e mostrës kryhen nga laboranti përkatës në laborator; 4. Rezultati analizohet nga laboranti dhe mjeku përkatës: 5. Rezultati aprovohet nga mjeku përgjegjës; 6. Zyrtari i Cilësisë në Divizionin për Kontrollin e Cilësisë dhe Shërbime të Përbashkëta Mikrobiologjike është përgjegjës për sigurimin e zbatimit të masave të biosigurisë dhe biombrojtjes, përfshirë kriteret e refuzimit dhe pranimit të mostrave.
[II]	Pajisjet dhe materialet tjera të nevojshme për testin Elisa	1. Sigurohu që të gjitha pajisjet dhe reagentët e mëposhtëm janë të disponueshëm në tavolinat e punës dhe funksionalë para fillimit të testimit. 1.1.Pajisjet dhe materialet e nevojshme: a. Lexuesi i pllakës me ELISA, pajisje për matjen e absorbancës 450/620 nm; b. Inkubatori 37 ^{0}C; c. Pajisje manuale ose automatike për shpëlarjen e pllakës; d. Pipetat për volumin në mes 10 dhe 1000 µl; e. Centrifuga për ndarjen e mostrës së serumit dhe plazmë; f. Vortex-i; g. Kohëmatësi; h. Kontenjerët për mbeturina; i. PPM si dorëzat, manteli, maska, syzet, mburoja për fytyrën; j. Ujë i destiluar ose dejonizuar; k. Kivetat; l. Një folie mbuluese; m. Udhëzimi për përdorim; n. Mbajtësja e stripeve; 1.2.Reagjentët e nevojshëm në kitin e testimit: a. Pllaka për mikrotitrim: 12 stripe me nga 8 thellime. Në secilin thellim janë të fiksuar antigjenet e purifikuara HBcAg;

		b. Kontrolla negative: E gatshme për përdorim; Të përzihet mirë para përdorimit; c. Kontrolla pozitive: E gatshme për përdorim; Të përzihet mirë para përdorimit; d. Buferi për pastrim; e. Konjugati; f. Substrati/Kromogjen; g. Tretja për stopimin e reaksionit është e gatshme për përdorim, duhet të përzihet mirë para përdorimit; 1.3.Ruajtja e Reagentëve: a. Reagentët ruhen në temperaturë 2–8°C; b. Nuk duhet të ngrihen; c. Ruhen sipas afatit të deklaruar nga prodhuesi.
[III]	Pajisjet dhe materialet tjera të nevojshme për testin CLIA	1. Sigurohu që të gjitha pajisjet dhe reagentët e mëposhtëm janë të disponueshëm në tavolinat e punës dhe funksionalë para fillimit të testimit. 1.1.Pajisjet: a. Analizatori LIAISON® XL; b. Kompjuteri dhe sistemi LIS (nëse aplikohet); 1.2.Reagentët: a. LIAISON® XL Murex HBc Ab Reagent Integrali me komponentet përbërëse: ✓ Grimcat magnetike (të mveshura me antigjene); ✓ Kalibratorët; ✓ Holluesi i mostrës; ✓ Konjugati. b. Komponentet e nevojshme përcjellëse: ✓ Kiveta dhe maja pipetash të sistemit LIAISON®; ✓ Starter Kit LIAISON®; ✓ Solucionet e sistemit (Wash/System Liquid) LIAISON®; ✓ Qeset për mbeturina LIAISON®. 1.3.Ruajtja e Reagjentëve: ✓ Reagjentët ruhen në temperaturë 2–8°C; ✓ Nuk duhet të ngrihen; ✓ Ruhen sipas afatit të deklaruar nga prodhuesi; ✓ Pas vendosjes në analizator përdoren sipas periudhës së stabilitetit të përcaktuar nga prodhuesi.
[IV]	Veprimet laboratorike të	1. Reagjentët lihen në temperaturë dhome (20-25℃) dhe përzihen para fillimit të testimit;

	përgatitjeve të reagensëve dhe mostrave për testimin me ELISA	2. Nga kiti për testim merren stripet e nevojshme për punë (kalkulo sipas numrit të testeve), pjesa tjetër e mbetur e stripeve duhet mbahet mbështjella në folie bashkë me tharësin dhe kutia të vendoset në frigorifer 2-8 °C; 3. Përgatitja e buferit për pastrim: 10 mL bufer + 190 mL ujë i distiluar. Buferi i përgatitur mund të ruhet 5 ditë në temperaturë të dhomës. Nëse paraqiten kristale në koncentrat, të ngrohet në banjo ujore 37°C dhe të përzihet mirë para përdorimit; 4. Reagjenti TMB Solucioni për substrat: i gatshëm për përdorim ruhet në temperaturë 2-8 °C, larg dritës. Tretja duhet të jetë e pangjyrë ose me një nuancë të lehtë blu; 5. Verifiko identifikimin e saktë të mostrave para analizimit.
[V]	Veprimet laboratorike të testimit me ELISA	1. Të ndezet inkubatori derisa të arrihet temperatura 37°C; 2. Numëro gropëzat: Vendos stripet e nevojshme në pllakë mbajtësin e stripeve; 3. Gropëza A1 mbetet e zbrazët: 4. Të vendosen 50 µl të kontrollës Negative në tri gropëza (B1,C1, D1); 5. Të vendosen 50 µl të kontrollës Pozitive në dy gropëza (E1, F1); 6. Shto 50 µl Mostër / Serum në gropëzat tjera; 7. Shto (pipeto) 50 µl të KONJUGATIT në secilën gropëz (përveç në A1) dhe të mbulohet pllaka me folie ngjitëse; Vërejtje: Përdor pipetat (vazhdueset) e veçanta për secilën mostër, kontroll negative dhe kontroll pozitive për të ju shmangur kontaminimit të kryqëzuar; 8. Inkubimi: mbulo pllakën me folie ngjitëse dhe inkuboni në 37° C për 60 minuta; 9. Shpëlarja: Pas përfundimit të inkubimit, largohet folia dhe të shpërlahet mirë me 350 µl tretësirë për shpërlarje (së paku 5 cikle). Pas cdo shpërlarje pllaka kthehet mbrapsht dhe shkundet mbi letër absorbuese në mënyrë që të largohen mbetjet; 10. 10 Shto (pipeto) 50 µl të substratit kromogjen A/dhe 50 µl të substratit/kromogjen B/në secilën gropëz (përfshirë edhe A1). Të mbulohet pllaka me folie ngjitëse; 11. Inkubimi për 15 minuta në 37° C; 12. Shto (pipeto) 50 µl të Acidit Sulfurik (Stop Solution) - Tretja për stopimin e reaksionit) në secilën gropëz. Te mikrothellimet me kontrollet pozitive dhe në mostrat Hbc Ab pozitive, ngjyra e kaltër duhet të shndërrohet në të verdhë.

		Thellimet që përmbajnë mostra negative nuk ndryshojnë ngjyrë. Të performohen të gjitha hapat sipas udhëzimit pa vonesë; 13. Të vendoset mikro-pllaka në lexuesin e mikro-pllakës ELISA brenda 5 min. pas stopimit të reaksionit.
[VI]	Veprimet laboratorike për leximin e rezultateve të testeve ELISA	1. Leximi i rezultateve: Lexuesi i mikro-pllakës ELISA vendoset në zero duke përdorur gropëzën e zbrazët të substratit; 2. Leximi bëhet duke u matur absorbanca në gjatësi valore 450/620 nm brenda 5 min. pas stopimit; 3. Absorbanca matet në 450nm për të gjitha gropëzat dhe vlerat regjistrohen për çdo kontrollë dhe mostër; 4. Rekomandohet matje bikromatike me gjatësi valore 620nm, nëse është e mundur; 5. Për gropëzat e dyfishta, kalkulohet mesatarja e absorbancës.
[VII]	Interpretimi i rezultateve të testeve ELISA	1. Interpretimi i rezultateve bëhet me llogaritjen si në vijim: **KALKULIMI i CUT-OFF: *NC x 2.1 = Cut-Off** **Vërejtje**: Nëse mesatarja e kontrolleve negative (*NC) është më e vogël se 0.05, merret 0.05. Nëse është më e madhe se 0.05 – shiko Hapi VII. Validimi i rezultateve lidhur me kriteret e Kontrollës së Kualitetit. **Sample/Cut-off** — **Interpretimi** <0.9 — Negative 0.9 – 1.1 — Papërcaktuar > 1.1 — Pozitive
[VIII]	Validimi i rezultateve të testeve ELISA	1. Rezultatet e testit janë valide nëse kriteret e kontrollës së kualitetit janë të verifikuara: a. a). Absorbansa në thellimin A1 (e zbrazët) është < 0.080 në 450nm; b. b).Vlera e absorbansës OD e kontrollës negative duhet të jetë ≤ 0.800; c. c). Vlera e absorbansës OD e kontrollës Pozitive duhet të jetë> 0.100; S/C.O. >10%: pozitive; S/C.O. ≤10%: negative. 2. Mostra me absorbansë të C.O. në intervalin 0.9-1.00 konsiderohet e papërcaktuar dhe rekomandohet të ritestohet.
[IX]	Veprimet laboratorike	1. Reagjentët lihen në temperaturë dhome (20-25°C) dhe përzihen para fillimit të testimit;

<table>
<tr><td></td><td>të përgatitjeve të reagensëve dhe mostrave për testimin me CLIA</td><td>2. Verifiko identifikimin e saktë të mostrave para analizimit. Si mostër përdoret serumi human ose plazma. Ruhet në temperaturë 2-8°C për ruajtje afatshkurtër, ose deri në -80 °C për ruajtje afatgjatë;
3. Siguroni se personeli është i trajnuar dhe kompetent për përdorimin e sistemit LIAISON® XL dhe të përcillen në mënyrë strikte udhëzimet sipas Shtojces 2;
4. Siguroni që në analizatorin LIAISON® XL është kryer kontrolla e cilësisë;
5. Verifiko vlefshmërinë e kalibrimit.
6. Verifiko funksionimin e analizatorit.
7. Kontrollo nivelin e reagjentëve dhe materialeve harxhuese.
8. Vendos reagentët si kalibratorin, kontrollet në vendet përkatëse;
9. Vendos mostrat në rack-et përkatëse.</td></tr>
<tr><td>[X]</td><td>Veprimet laboratorike për testimin me CLIA</td><td>1. Regjistro ose importo kërkesat e analizave: Përzgjidh analizën HBc Ab;
2. Nis analizën. Analizatori kryen automatikisht dozimin e reagjentëve, inkubimet e nevojshme, larjet automatike dhe matjen e sinjalit kemilumineshent.</td></tr>
<tr><td>[XI]</td><td>Interpretimi i rezultateve të testeve CLIA</td><td>1. Analizatori kryen automatikisht kalkulimin e sinjalit vs Cut-off., matjen e sinjalit kemilumineshent dhe bën vlerësimin final të rezultateve të antitrupave HBcAb.
<table>
<tr><th>Sample/Cut-off</th><th>Interpretimi</th></tr>
<tr><td><1.00</td><td>Negative</td></tr>
<tr><td>≥ 1.00</td><td>Pozitive</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>[XII]</td><td>Validimi i rezultateve të testeve CLIA</td><td>1. Rezultatet duhet të interpretohen së bashku me të dhënat klinike dhe epidemiologjike;
2. Në fazat shumë të hershme të infeksionit antitrupat mund të mos jenë të detektueshëm;
3. Rezultatet pozitive kërkojnë testim konfirmues sipas procedurave të laboratorit.</td></tr>
<tr><td>[XIII]</td><td>Raportimi i rezultateve</td><td>1. Raportimi i rezultateve duhet përfshirë rezultatin e testit, llojin e testimit, vlerat e fituara dhe çdo koment ose rekomandim shtesë për trajtim;
2. Siguro futjen e të dhënave të duhura në sistemin e menaxhimit të informacionit laboratorik;
3. Siguro kontrollin dhe ruajtjen e dokumentacionit përkatës.
4. Verifiko trajtimin e moskonformiteteve dhe zbatimin e veprimeve korrigjuese;</td></tr>
</table>

		5. Si mostër përdoret serumi human ose plazma. Ruhet në temperaturë 2-8°C për ruajtje afatshkurtër, ose deri në -80 °C për ruajtje afatgjatë; 6. Asgjësimi i mostrës bëhet sipas protokollit të laboratorit për asgjësimin e mostrave.

Referencat:

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6th Edition, CDC;
- WHO Laboratory biosafety manual, 4th edition;
- Protokoli i testimit HBcAb me ELISA manuale Axiom, Germany;
- Udhëzuesi i përdorimit për lexuesin e mikro-pllakës ELISA;
- Udhëzuesi i përdorimit për pastruesin e pllakës mikro-titrike ELISA;
- Manuali i përdorimit LIAISON® XL;
- Udhëzimi i përdorimit (IFU) për LIAISON® XL Murex HCV Ab;
- ISO 15189:2022;
- Procedurat e sistemit të menaxhimit të cilësisë së laboratorit.
- World Health Organization (WHO) guidelines for laboratory biosafety.

Shtojca 1.

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) është një metodë analitike imunologjike që përdoret për zbulimin dhe matjen sasiore ose cilësore të antigjeneve/antitrupave në mostra biologjike (serum, plazmë,).

1. Parimi i metodës

Metoda bazohet në lidhjen specifike antigjen–antitrup. Në ELISA manuale, reagentët shtohen dhe lahen manualisht në thellimet e mikropllakës. Një enzimë e lidhur me antitrupin ose antigjenin reagon me substratin dhe prodhon një ndryshim ngjyre. Intensiteti i ngjyrës është proporcional me sasinë e analitit të pranishëm në mostër.

2. Hapat kryesorë të ELISA-s manuale

1. Veshja (coating) e thellimeve me antigjen ose antitrup.
2. Bllokimi i vendeve të palidhura.
3. Shtimi i mostrës.
4. Inkubimi për të lejuar lidhjen antigjen–antitrup.
5. Larja e thellimeve për largimin e substancave të palidhura.
6. Shtimi i konjugatit enzimatik.
7. Inkubimi dhe larja.
8. Shtimi i substratit kromogjen.
9. Ndalimi i reaksionit.
10. Leximi i absorbancës me spektrofotometër (ELISA reader).

Kjo metodë përdor analizën ELISA të parimit konkurrues të fazës së ngurtë me një hap të inkubacionit. Anti-HBc i pranishëm në mostër konkurron me anti-HBc monoklonale të konjuguar me peroksidazen e rrikes (HRP-Konjugati) për një sasi fikse të HBcAg të fiksuara në thellime. Kur nuk ka anti-HBc në mostër, anti-HBc i konjuguar me HRP do të lidhet me antigjenet brenda thellimeve dhe cdo HRP-Konjugat i palidhur hiqet gjatë larjes.

Solucionet Kromogjene A dhe B shtohen në thellimet dhe gjatë inkubimit kromogjenet pa ngjyrë hidrolizohen nga HRP –Konjugati i lidhur në një produkt me ngjyrë blu .Reaksioni ndalohet përmes shtimit të acidit sulfurik, me ç'rast vjen deri te ndryshimi i ngjyrës nga ngjyra blu në të verdhë. Sasia e intensitetit të ngjyrës mund të matet dhe është proporcionale me sasinë e antitrupave të kapur në thellime respektivisht në mostër.

Mungesa ose zhvillimi i ulët i ngjyrës tregon për praninë e antitrupave ndaj HBcAg në mostër

Ag(p)-HBcAg i veshur paraprakisht

Ab(s)-anti-HBc në mostër

(Ab)Anti-HBc i konjuguar me ENZ-HRP

Antigjeni "core-bërthamë"i hepatitit B (HBcAg) është komponenti kryesor i strukturës virale. HBcAg përbëhet nga nje polipeptid i vetem prej rreth 17 kD që lirohet pas zbërthimit të grimcave bërthamore , ky antigjen përmban një përcaktues imunologjik .

- Antitrupat ndaj HBcAg (Antitrupi total anti-HBc dhe IgM)shfaqen menjëherë pas shfaqjes se HBsAg dhe vazhdojnë për tërë jetën si tek personat qe janë shëruar nga një infeksion i hepatitit B dhe tek ata që zhvillojnë statusin e bartësit te HBsAg por në raste të rralla. Infeksioni me HBV gjithashtu mund të rrjedhë pa shfaqjen e anti-HBc të zbulueshëm imunologjikisht (zakonisht në pacientet me imunosupresion).
- Anti-HBc është një shënues (marker) i infeksionit akut, kronik ose të shëruar nga HBV dhe depistimi për anti-HBc ofron informacion mbi prevalencën e sëmundjes në grupe të ndryshme . Zbulimi i anti-HBc në diagnozën klinike është një tregues i rëndësishëm diagnostikues dhe së bashku me testet e tjera të hepatitit B mundëson diagnostikimin dhe menaxhimin e sëmundjes.
- Në mungesë te shënuesve (markerëve) tjerë të hepatitit B (personat HBs Ag) anti-HBc mund të jetë i vetmi tregues i një infeksioni viral ekzistues i hepatitit B.

3. Kontrolla e cilësisë

3.1. Specificiteti diagnostik definohet si probabiliteti i testit i arritjes së rezultatit negativ në mungesë të analitit specifik. Testimi i mostrave të dhuruesve të gjakut është 99.87% përkatësisht tek pacientët e hospitalizuar 99.63%.

3.2. Senzitiviteti diagnostik definohet si probabiliteti i testit i arritjes së rezultatit pozitiv në prezencë të analitit specifik. Tek rastet akute dhe të shëruar është 100%, përkatësisht rastet kronike 99.75%.

3.3. Interferenca me mostrat hemolitike, lipemike ose ikterike nuk janë observuar deri në koncentrimin prej 10 mg/ml hemoglobin, 5mg/mL trigliceride dhe 0.5 mg/mL bilirubin.

3.4. Kryqëzimi i reaksionit: Hulumtimet e panelit të mostrave me aktivitet të antitrupave deri në parametrat potencial kryqëzues nuk kanë dhënë evidencë për rezultatet false pozitive.

4. Kufizimet e procedurës

4.1. Kontaminimi bakterial ose ciklet e ngrirje-shkrirjes së përsëritur të mostrës mund të ndikojnë në vlerat e absorbancës.

4.2. Rezultatet pozitive të papërsëritshme mund të ndodhin për shkak të karakterisitkavë të përgjithshme biologjike dhe biokimike të testit ELISA.

4.3. Testi ka ndjeshmëri dhe specifitet të lartë, mirëpo në raste të rralla disa mutante ose subtipe të virusit HBV mund të mbesin të padetektuar.

4.4. Antigjeni mund të mos detektohet gjatë fazës së hershme të sëmundjes dhe tek disa individë me imunitet të kompromituar.

4.5. Çdo rezultat pozitiv duhet interpretuar në suaza të të dhënave klinike të pacientit si dhe testeve tjera laboratorike.

4.6. Mundësitë e gabimeve të ndryshme: kiti i skaduar, procedura e pastrimit jo e duhur, reagjentët e kontaminuar, hapat jo korrekt të procedurës së punës, aspirimi jo i duhur gjatë pastrimit, problem me pajisjet, kohën vëllimi, natyra edhe kualiteti i mostrës.

4.7. Për kufizime të tjera të referohet PSO për pranimin dhe refuzimin e mostrës.

5. Skema e shkurtër e procedurës së testimit me Elisa

SKEMA E TESTIMIT PËR antitrupat ndaj antigjenit HBc	
Metoda	Operimi
Kontrollat	50 µl
Mostra	50 µl
Konjugati	50 µl
INKUBIMI 1	60 min.
Temperatura	37 °C
Shpërlarja	350 µl / 5 cikle
Substrati A, B	50/50 µl
INKUBIMI 2	15 min.
Temperatura	37 °C
Acidi Sulfurik	50 µl
Leximi OD	450/650

6. Llojet e ELISA-s

6.1. ELISA direkte (Direct ELISA)

- Antigjeni fiksohet në thellim.
- Antitrupi i shënuar me enzimë lidhet drejtpërdrejt me antigjenin.

6.2. ELISA indirekte (Indirect ELISA)

- Antigjeni fiksohet në thellim.
- Shtohet antitrupi primar nga mostra.
- Më pas shtohet antitrupi sekondar i shënuar me enzimë.
- Përdoret gjerësisht për zbulimin e antitrupave në serum.

6.3. ELISA sandwich

- Thellimet vishen me antitrup kapës.
- Antigjeni i mostrës lidhet me këtë antitrup.
- Më pas shtohet një antitrup i dytë detektues.

6.4. ELISA konkurruese (Competitive ELISA)

- Antigjeni i mostrës konkurron me antigjenin e shënuar për vendet e lidhjes.
- Intensiteti i ngjyrës është në raport të zhdrejtë me përqendrimin e analitit.

7. Intepretimi klinik

Interpretimi i ELISA-s manuale bëhet në bazë të absorbancës (densitetit optik – OD) së matur spektrofotometrikisht. Mostrat me vlera mbi cut-off konsiderohen pozitive, ato nën cut-off negative, ndërsa vlerat pranë cut-off konsiderohen të dyshimta dhe kërkojnë ritestim.

Shtojca 2.

LIAISON XL MUREX assay është një analizë imunologjike me metodën CLIA (Chemiluminescent Immunoassay) për përcaktimin cilësor të antitrupave ndaj virusit të hepatitit në serum dhe plazmë humane.

1. Përbërja e kitit

Kiti përbëhet nga reagentë të vendosur në një njësi të integruar (Reagent Integral), e cila mundëson realizimin e 100 testeve.

1.1 Komponentët kryesorë të Reagent Integral janë:

- Grimca magnetike të veshura me antigjene rekombinante të viruseve të hepatiteteve
- Kalibrator me nivele të ulëta të antitrupave ndaj hepatiteve.
- Hollues i mostrës (Specimen Diluent).
- Konjugat me Antigjen HBcAg, i lidhur me derivat të izoluminolit.

1.2 Kontrollet

Seti i kontrollit përfshin:

- Kontroll negativ (serum/plazmë humane jo reaktive ndaj virusit të hepatitetve).
- Kontroll pozitiv (serum/plazmë humane reaktive ndaj antitrupave të virusit të hepatitit).

2. Parimi i metodës

Metoda bazohet në një imunoanalizë indirekte kemilumineshente (CLIA).

1. Grimcat magnetike janë të mveshura me antigjenet rekombinante .
2. Antigjeni i biotiniluar lidhet me grimcat magnetike të mveshura.
3. Nëse në mostrën e pacientit janë të pranishëm antitrupat ndaj virusit të hepatitit, ata lidhen me antigjenet virale në fazën solide.
4. Në inkubimin e dytë shtohet një antitrup monoklonal kundër IgG humane, i konjuguar me izoluminol.
5. Pas larjeve për të larguar materialin e palidhur, shtohen reagentët aktivizues.
6. Ndodh reaksioni kemilumineshent dhe emetohet dritë.
7. Intensiteti i dritës matet nga fotomultiplikatori në njësi relative të dritës (RLU).

Sasia e dritës së prodhuar është proporcionale me praninë e antitrupave në mostrën e pacientit.

3. Interpretimi klinik

- Rezultat pozitiv: tregon praninë e antitrupave dhe sugjeron ekspozim aktual ose të mëparshëm ndaj virusit.
- Rezultat negativ: nuk janë detektuar antitrupa.

4. Kufizimet

- Testi detekton vetëm antitrupa/antigjene dhe jo ARN-në e virusit.
- Nuk mund të përdoret për matjen e ngarkesës virale (viral load).
- Nuk mund të përdoret për monitorimin e trajtimit antiviral.
- Nuk përcakton nëse infeksioni është akut, kronik apo i kaluar.

.