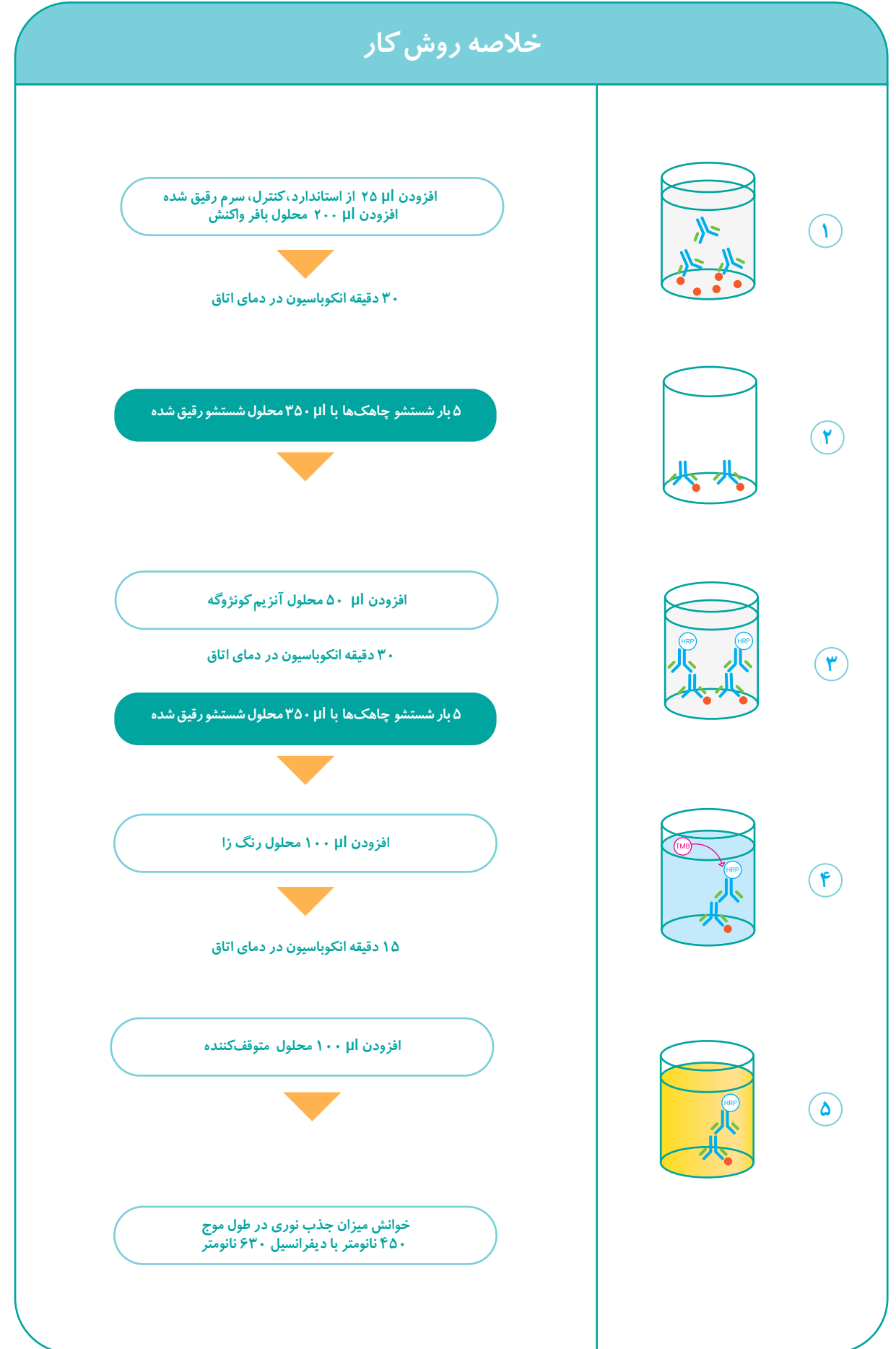


خلاصه روش کار



کاربرد

اندازه گیری نیمه کمی سطح آنتی بادی IgG ضد SARS-CoV-2 در سرم یا پلاسمای انسانی به روش ایمونوآنزیماتیک (ELISA) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) این کیت نباید به تنهایی برای تشخیص موارد بالینی استفاده گردد. (Cat.No. DG.COVG.01) Investigational Use Only (IUO)

مقدمه

ساختار و مشخصات ویروس SARS-CoV-2: بتا کروناویروس SARS-CoV-2 عامل بیماری COVID-19 یک ویروس پوشش دار، با ژنومی از نوع RNA است. این RNA ۲۷ پروتئین شامل ۴ پروتئین ساختمانی (پروتئین سطحی اسپایک (S)، پوششی (E)، غشایی (M) و نوکلئوکسپید (N))، ۱۵ پروتئین غیر ساختمانی و ۸ پروتئین فرعی را کد می کند^(۱). مطالعات فیلوژنتیکی این ویروس نشان می دهد که میزبان اولیه و طبیعی آن به احتمال قوی خفاش بوده که متعاقباً از طریق یک میزبان حد واسط به انسان منتقل شده است. در اواخر سال ۲۰۱۹، به دنبال انتقال فرد به فرد این ویروس توسط قطرات تنفسی، اپیدمی این بیماری در شهر ووهان چین و سپس پاندمی آن رخ داد^(۲). آلودگی با این ویروس که با علائم اولیه متفاوتی مانند تب، تنگی نفس، سرفه خشک و... ظاهر می شود می تواند سبب سندرم حاد تنفسی و مرگ بیمار گردد. این ویروس تا کنون موجب ابتلا بیش از ۴ میلیون و مرگ صدها هزار نفر در جهان شده است^(۳).

کاربرد بالینی: تشخیص بیماری COVID-19 عمدتاً متکی به یافته های رادیولوژیکی و آزمایشگاهی است. در بین روشهای آزمایشگاهی، تشخیص مستقیم ویروس با Real Time PCR و شناسایی آنتی بادی های اختصاصی برای مطالعات سرواپیدمیولوژی، تشخیص نوع عفونت و همچنین بررسی سابقه ابتلا به ویروس اهمیت زیادی دارد^(۱).

تحقیقات انجام شده بر روی بیماران مبتلا به COVID-19 و نیز مطالعاتی که در مورد عفونت های مشابه مانند SARS و MERS انجام شده است نشان می دهد که سیستم ایمنی افراد مبتلا پس از حدود یک تا دو هفته فعال می شوند و بر علیه پروتئین های مختلف ویروس و بویژه پروتئین های اسپایک و نوکلئوکسپید آنتی بادی تولید می کند. این آنتی بادی ها از هر دو ایزوتیپ IgG و IgM می باشند. مانند بسیاری از عفونت های ویروسی دیگر، تیتراژ ایزوتیپ IgM پس از ۲ تا ۴ هفته به بالاترین حد خود میرسد و سپس کاهش پیدا می کند؛ در حالی که آنتی بادی IgG پایداری بیشتری دارد و ممکن است تا سالها در سرم افراد قابل شناسایی باشد. بر این اساس، الگوی ظهور و افول آنتی بادی های اختصاصی می تواند برای تشخیص عفونت حاد و سابقه ابتلا به آن کاربرد داشته باشد. وجود IgM نشانگر عفونت حاد و سابقه کوتاه مدت ابتلا به ویروس می باشد، در حالی که منفی شدن این ایزوتیپ به همراه وجود IgG اختصاصی سابقه ابتلا قبلی به عفونت را نشان می دهد^(۴). تشخیص مستقیم ویروس با روش Real Time PCR بر روی نمونه سوآپ حلق و یا بینی با محدودیت های تکنیکی و عملی زیاد از جمله عدم امکان شناسایی عفونت بعد از دوره بهبودی و همچنین درصد بالای موارد منفی کاذب همراه است. همچنین به دلیل محدودیت امکانات و بالا بودن هزینه آزمون، فقط بیماران علامت دار که عوارض بالینی نسبتاً شدیدی دارند با آن روش آزمایش می شوند. لذا آمار افراد مبتلا بر اساس تستهای مولکولی چندان قابل اعتماد نبوده و برای دسترسی به اطلاعات دقیق تر؛ مطالعه سرواپیدمیولوژی بیماری با استفاده از آزمونهای سرولوژیک دقیق و حساس مانند الایزا اهمیت زیادی دارد. با این آزمون افرادی که سابقه ابتلا به ویروس دارند، اعم از کسانی که فرم شدید، خفیف و یا فاقد علائم بالینی عفونت را تجربه کرده اند، از طریق سنجش آنتی بادی های اختصاصی ضد SARS-CoV-2 قابل شناسایی می باشند. اگر چه در حال حاضر اطلاعات سرولوژیک در مورد بیهوشی و سایر علائم این ویروس خیلی محدود است و مطالعات بعدی نکات جدیدی را روشن خواهد کرد، لیکن سنجش آنتی بادی های اختصاصی از ابعاد مختلف در این عفونت حائز اهمیت است^(۵).

اساس روش سنجش

مدت زمان انجام تست: ۳۰ دقیقه + ۳۰ دقیقه + ۱۵ دقیقه

طراحی کیت اندازه گیری سطح آنتی بادی IgG ضد SARS-CoV-2 بر اساس روش ایمونوآنزیماتیک با استفاده از آنتی ژن های نوترکیب SARS-CoV-2 می باشد. در این روش آنتی بادی مورد سنجش طی دو مرحله بین آنتی ژن نوترکیب SARS-CoV-2 تثبیت شده در ته چاهک های پلی استایرنی و آنتی بادی ضد IgG انسانی متصل به آنزیم پراکسیداز (HRP) قرار می گیرد. پس از شستشو و خارج کردن آنالیت های غیر متصل با افزودن سوبسترا، تترامتیل بنزیدین (TMB)، آنزیم رنگ آبی ایجاد می کند. با اضافه نمودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می شود. شدت رنگ ایجاد شده که با غلظت IgG نمونه ها ارتباط مستقیم دارد، در طول موج ۴۵۰ نانومتر (با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر) اندازه گیری می گردد.

توجه و احتیاط

- این کیت تشخیصی به صورت *in vitro* قابل استفاده می باشد.
- کلیه محلول های کیت آماده مصرف هستند. فقط محلول شستشوی غلیظ (20x) قبل از استفاده نیاز به رقیق سازی دارد.
- اجزای اختصاصی این کیت برای مصرف با اجزای هم سری ساخت کیت ارائه شده اند.
- اجزای عمومی کیت شامل محلول های شستشو، رنگ زا و متوقف کننده می باشند که برای سایر محصولات دیازبست نیز قابل استفاده هستند.
- به منظور رقیق سازی نمونه ها می بایست از "محلول رقیق کننده نمونه (Sample diluent)" کیت مربوطه، استفاده گردد. استانداردها و کنترل ها نیاز به رقیق سازی نداشته و آماده مصرف می باشند.**
- جهت کاهش پدیده تأخیری، ضرورت دارد مرحله اول تست در کمتر از ۱۰ دقیقه انجام شود.
- توصیه می شود در هر تست استانداردها جهت رسم منحنی استفاده شوند، همچنین در صورتی که همزمان بیش از یک پلیت تست گذاشته شود، رسم منحنی برای هر پلیت ضروری است.
- کالیبره بودن ابزارها و دستگاهها در صحت نتایج اثر گذار است.
- جهت ساخت اجزای این کیت از مواد شیمیایی و زیستی استفاده شده است. لذا توصیه می شود هنگام کار از تماس مستقیم با مواد پرهیز شود.

محتویات کیت

اجزای تشکیل دهنده کیت ۹۶ تستی SARS-CoV-2 IgG به شرح زیر می باشد:

ردیف	نام اجزاء	مقدار/تعداد
۱	پلیت پوشانده شده با آنتی ژن های نوترکیب نوکلئوکسپید و اسپایک ویروس SARS-CoV-2 (Recombinant SARS-CoV-2 Antigen Coated Microtiter Plate)	1/96 wells
۲	استانداردهای A-E (Standards A-E)	5/0.5 ml
۳	کنترل منفی، مشکوک، مثبت (Negative, Borderline, Positive Controls)	3/0.5 ml
۴	بافر واکنش (Assay Buffer)	1/25 ml
۵	محلول رقیق کننده نمونه (Sample Diluent)	2/25 ml
۶	محلول شستشوی غلیظ (Concentrated Wash Buffer)	1/25 ml
۷	محلول آنزیم (HRP) کونژوگه شده به آنتی بادی ضد IgG انسانی (Anti-Human IgG- HRP Conjugate)	1/6 ml
۸	محلول رنگ زا (TMB Substrate)	1/12 ml
۹	محلول متوقف کننده (Stop Solution)	1/12 ml

شرایط نگهداری و پایداری

- کیت را در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد نگهداری کنید.
- پایداری کیت در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد، قبل از شروع استفاده (In Shelf) و حین استفاده (In use) بر مبنای استاندارد CLSI (EP25-A) ^(۶) بررسی گردید که نتایج به شرح زیر می باشد:

قبل از شروع استفاده (In Shelf)	تا پایان تاریخ انقضا
حین استفاده (In use)	تا ۶ ماه

جمع آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه مورد نیاز جهت اندازه‌گیری IgG، سرم یا پلاسما می‌باشد. جهت پایداری نمونه‌ها از سدیم آزاید (Sodium Azide) استفاده نشود. نمونه‌ها در دمای ۸-۲۰ درجه سانتیگراد تا ۷ روز و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا یک ماه قابل نگهداری هستند. از ذوب شدن و یخ زدن مکرر نمونه‌ها پرهیز نمایید. جهت اندازه‌گیری IgG نمونه‌های منجمد شده، ابتدا نمونه را در دمای اتاق ذوب و بعد با حرکت دست یکنواخت نمایید.

مواد و وسایل لازم که همراه کیت عرضه نمی‌شوند

- دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر کالیبر شده
- سمپلرهای ۵۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۰ میکرولیتر کالیبر شده
- سرسمپلرهای یک‌بار مصرف
- آب مقطر برای رقیق سازی محلول شستشوی غلیظ

روش انجام تست

قبل از انجام تست:

- تمام مواد و نمونه‌ها را به دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد) برسانید.
- نمونه‌های سرم را به کمک محلول رقیق کننده نمونه به نسبت ۱ به ۵۰ رقیق کنید. (۱۰ میکرولیتر نمونه به ازاء ۵۰۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده)
- برای تهیه محلول شستشوی قابل مصرف، یک حجم محلول شستشوی غلیظ (20x) را با ۱۹ حجم آب مقطر رقیق نمایید.

مراحل انجام تست:

۱. ۲۵ میکرولیتر از هر استاندارد، کنترل و نمونه سرم رقیق شده به چاهک مربوطه بریزید.
۲. ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر واکنش به هر چاهک اضافه نمایید و پلیت را ۱۵ ثانیه تکان دهید.
۳. روی چاهک‌ها را با برجسب مخصوص پوشانده و مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۴. چاهک‌ها را ۵ بار با ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو بشویید.
۵. به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیم کونزوگه اضافه نمایید.
۶. روی چاهک‌ها را با برجسب مخصوص پوشانده و مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۷. چاهک‌ها را ۵ بار با ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو بشویید.
۸. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ زا اضافه نمایید و پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۹. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه نمایید و بعد از مخلوط کردن به مدت ۱۵ ثانیه، میزان جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر، حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد از افزودن محلول متوقف کننده، بخوانید.

کنترل کیفی

تست در صورتی تأیید می‌گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از ۰/۰۹ باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از ۱/۴ باشد.
- خوانش کنترل‌های منفی، مشکوک و مثبت کیت در محدوده مورد قبول باشد.

تداخل‌ها و محدودیت‌ها

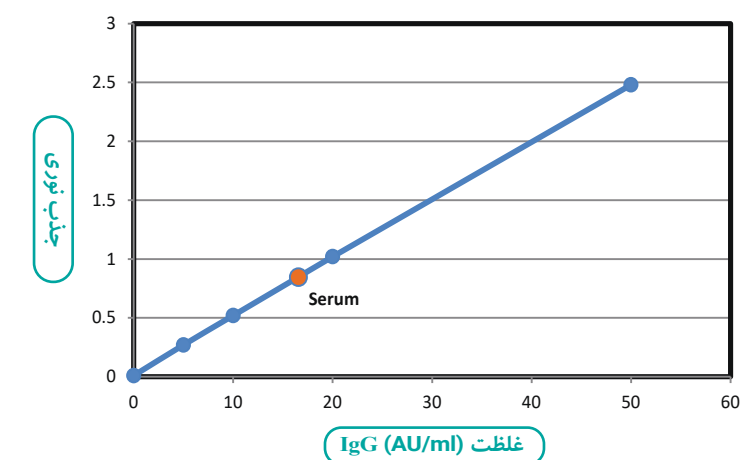
- لازم به ذکر است که تیتراژ IgG ضد SARS-CoV-2 حداقل ۲ الی ۳ هفته بعد از مواجهه با ویروس در سرم قابل ردیابی است. بنابراین چنانچه نمونه گیری سرم زودتر از این زمان انجام شود، نتیجه تست منفی خواهد شد.
- در افرادی که داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی مصرف می‌کنند، نتیجه تست می‌تواند علیرغم ابتلا به COVID-19 منفی باشد.
- نتایج این کیت نباید به عنوان تنها شاخص تشخیص بیماری استفاده شود.
- در تفسیر نتایج این کیت باید به نتیجه تست IgM و همچنین وجود علائم بالینی، فاصله زمانی بین شروع علائم و اخذ نمونه خون و سایر تستهای تشخیصی از جمله تستهای مولکولی و تصویربرداری نیز توجه شود و نتایج بر اساس سایر موارد ذکر شده تفسیر شود. در صورت منفی بودن جواب آزمایش و شک به وجود بیماری توصیه می‌شود نسبت به اخذ نمونه مجدد و تکرار آزمایش پس از یک تا دو هفته اقدام شود.

- از آنجا که افراد حامل ویروس، در سیر عفونت و بیماری، میتوانند هم پاسخ آنتی بادی منفی و مثبت داشته باشند، نتایج آزمایش آنتی بادی نباید به تنهایی برای تشخیص بیماری و یا رد عفونت با SARS-CoV-2 و یا تعیین اعلام وضعیت عفونت (infection status) مورد استفاده قرار گیرد.
- اثر تداخلی بیلی روبین (تا ۲۰ mg/dl)، هموگلوبین (تا ۵۰۰ mg/dl)، تری گلیسیرید (تا ۳۰۰ mg/dl) و فاکتورهای روماتوئید (تا ۳۲۵۰ IU/ml) به لحاظ تفسیر نتایج مشاهده نگردد.
- نمونه سرم یا پلاسما افرادی که سابقه درمان یا تشخیص بیماری با مواد حاوی آنتی‌بادی مونوکلونال موش داشته‌اند، می‌تواند حاوی آنتی بادی‌های انسانی ضد موش (HAMA) باشد. با توجه به غلظت آنتی‌بادی و مواد بازدارنده مورد استفاده در این کیت، واکنش‌های تداخلی غیر اختصاصی به حداقل رسیده و تا کنون واکنش مثبت کاذب مشاهده نشده است.

محاسبه نتایج

غلظت IgG نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد (رسم به‌صورت دستی یا دستگاه الایزا ریدر) تعیین می‌گردد. در این منحنی جذب نوری استانداردها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر بر روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را بر حسب AU/ml بر روی محور افقی (X) مشخص کنید و بر اساس آن منحنی را رسم نمایید. با استفاده از منحنی ترسیم شده و جذب نوری بدست آمده از نمونه، غلظت IgG آن قابل محاسبه می‌باشد. جدول و نمودار زیر به عنوان مثال ارائه شده است.

غلظت IgG (AU/ml)	میانگین جذب نوری	جذب نوری	نمونه
۰	۰/۰۱	۰/۰۲	استاندارد A
۵	۰/۲۷	۰/۲۷	استاندارد B
۱۰	۰/۵۲	۰/۵۲	استاندارد C
۲۰	۱/۰۲	۱/۰۱	استاندارد D
۵۰	۲/۴۸	۲/۴۵	استاندارد E
		۲/۵۱	
۴/۷۸	-	۰/۲۵	کنترل منفی
۱۰/۰۹	-	۰/۵۳	کنترل مشکوک
۱۹/۴۸	-	۰/۹۷۵	کنترل مثبت
۱۶/۵۶	-	۰/۸۳۷	سرم



تفسیر نتایج

پیرو بررسی‌های به عمل آمده بر روی سرم افراد مبتلا و سالم، با در نظر گرفتن حساسیت (sensitivity) و ویژگی (specificity) کیت اندازه‌گیری نیمه کمی IgG ضد SARS-CoV-2 مرز تشخیصی (Cut off point) ۱۰ AU/ml جهت تفسیر نتایج بدست آمده تعیین گردید. بر این اساس نمونه‌های سرمی در سه گروه به شرح ذیل دسته‌بندی شدند.

تفسیر نتایج	مقدار IgG نمونه
منفی	کمتر از ۵ AU/ml
مشکوک	بین ۵-۱۰ AU/ml
مثبت	بیشتر از ۱۰ AU/ml

افرادی که نمونه‌های سرمی آنها منفی ارزیابی شوند، یا فاقد آنتی بادی‌های IgG ضد SARS-CoV-2 هستند و یا مقدار این آنتی بادی‌ها کمتر از سطحی است که مثبت ارزیابی گردد. در صورت اخذ نتیجه منفی تست سرولوژی توصیه می‌گردد نتایج با لحاظ فاصله زمانی بین شروع علائم بالینی تا نمونه‌گیری خون و نیز نتایج بدست آمده از دیگر تستهای مرتبط از جمله روش‌های تشخیص مولکولی تفسیر گردد. همچنین با توجه به تأخیر پاسخ ایمنی نسبت به زمان ابتلای بیماری توصیه می‌گردد آزمایش به فاصله یک تا دو هفته تکرار گردد. در افرادی با علائم بالینی و یا در تماس با بیماران مبتلا به COVID-19 منفی نمی‌تواند به طور قطعی وجود بیماری را رد نماید.

در خصوص افرادی که نتیجه سرولوژیکی آنها مشکوک باشد، اندازه‌گیری مجدد آنتی بادی این افراد به فاصله چند روز توصیه می‌گردد و در صورت تأیید جواب مشکوک بررسی ابتلا به COVID-19 باید با روش‌های دیگر انجام شود.

نتیجه سرولوژیکی مثبت نشان دهنده ابتلا به بیماری COVID-19 است. هر چند نتیجه مثبت تمایزی بین عفونت حاد حاضر و موارد بهبود یافته قائل نیست و نتیجه مثبت ضرورتاً به معنای وجود بیماری COVID-19 فعال نمی‌باشد.

با توجه به نتایج حاصل از بررسی اختصاصیت کیت با تعداد بالای نمونه‌های سرمی قبل از پاندمی (۹۸/۴٪)، احتمال تداخل با دیگر بتاکروناویروس‌ها از جمله OC43, 229E, NL63 و HKU1 بسیار اندک است. با این حال ضروری است تفسیر نتایج سرولوژیکی مثبت با یافته‌های بالینی انطباق داده شود.

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

ویژگی‌های اختصاصی کیت

۱. حساسیت: حساسیت کیت IgG ضد SARS-CoV-2 با سرم ۱۷۲ بیمار مبتلا به COVID-19 (در هفته دوم تا چهارم) که بیماری آنها با علائم بالینی، تست مثبت مولکولی به روش Real Time PCR و سی تی اسکن ریه تأیید شده بود، ارزیابی گردید. بر اساس نتایج بدست آمده حساسیت کیت ۹۸/۶٪ برآورد گردید. مطابق ارزیابی انستیتو پاستور ایران حساسیت بدست آمده از بررسی ۴۸ بیمار که نمونه‌های سرمی آنها در هفته‌های مختلف پس از شروع بیماری جمع‌آوری گردیده بود ۵۸/۳۳٪ گزارش شد. همچنین مطابق گزارش انستیتو پاستور ایران حساسیت کیت دیازبست در مقایسه تطبیقی با معتبرترین کیت کمی لومینسانس در دسترس آن انستیتو ۹۴/۷۴٪ برآورد گردید.

۲. اختصاصیت: جهت ارزیابی اختصاصیت کیت، IgG ضد SARS-CoV-2 سرم ۳۸۴ فرد سالم که سرم آنها حداقل سه ماه قبل از همه‌گیری COVID-19 جمع‌آوری شده بود اندازه‌گیری گردید. بر اساس نتایج بدست آمده اختصاصیت کیت ۹۸/۴٪ می‌باشد. مطابق گزارش انستیتو پاستور ایران نتایج بدست آمده از بررسی ۴۰ نمونه سرمی تهیه شده از سازمان انتقال خون مربوط به یکسال قبل، اختصاصیت کیت دیازبست ۱۰۰٪ گزارش شده است.

۳. تداخل کلاس ایمونوگلوبولین (Class specificity): نتایج بدست آمده از نمونه‌های بیماران مبتلا به COVID-19 که حاوی ایمونوگلوبولین کلاس M و فاقد ایمونوگلوبولین کلاس G هستند، نشان دهنده عدم تداخل این کیت با IgM ضد SARS-CoV-2 است.

۴. دقت: شاخص دقت این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP5-A2) (ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان IgG ضد SARS-CoV-2 ۳ نمونه سرمی با غلظت‌های مختلف (منفی، مشکوک و مثبت) ۶۰ بار اندازه‌گیری و انحراف معیار و ضریب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

نمونه	تعداد سنجش	میانگین غلظت (AU/ml)	Within Run		Total	
			SD	%CV	SD	%CV
منفی	۶۰	۵/۹۵	۰/۳۳	۵/۵۵	۰/۴۲	۷/۱۹
مشکوک	۶۰	۱۱/۵۵	۰/۶۵	۵/۶۱	۰/۷۱	۶/۲
مثبت	۶۰	۲۰/۷۴	۰/۸	۳/۹۴	۰/۶۴	۳/۰۹

منابع

1. 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
2. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al., Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. JAMA. 2020 Feb 7. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
3. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nat Rev Immunol. 2020 Apr 28 doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.
4. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK et al., Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med. 2020 Apr 29 doi:10.1038/s41591-020-0897-1.
5. 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
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of *In Vitro* Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition. NCCLS Document EP25-A. 2009.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP5-A2. 2004.



تهران، خیابان سهروردی شمالی، خیابان افشار جوان، پلاک ۲، واحد ۱۰
تلفن ویژه: ۰۲۱-۷۲۴۵۷