

راهنمای به کارگیری تست تشخیص سریع هپاتیت ویروسی B

HBV- RDT

مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر

اداره هپاتیت

دکتر حمیرا فلاحی

پاییز ۱۳۹۸

مکانیسم

HBs Ag به طور معمول، ۲-۴ هفته قبل از غیرعادی شدن سطح ALT و ۳-۵ هفته قبل از ظهور شکایت بیمار یا زردی در خون قابل گزارش است. در این تست ترکیبی، از آنتی بادی‌های مونوکلونال و پلی کلونال استفاده شده است که به طور انتخابی سطح افزایش یافته آنتی ژن را در خون، سرم یا پلاسما تشخیص می‌دهد. کیت تشخیص سریع HBs Ag (خون کامل/پلاسما/سرم) یک ایمنونواسی کروماتوگرافیک سریع برای تشخیص کیفی آنتی ژن سطحی هیپاتیت B (HBs Ag) در خون کامل، سرم یا پلاسماست. غشاء (مامبران)، با آنتی بادی‌های ضد HBs Ag در قسمت تست (T) روکش شده است. در طی آزمایش، خون کامل، سرم یا پلاسما با ذرات آنتی بادی ضد HBs Ag واکنش نشان می‌دهد. این مخلوط با عمل موینگی بر روی غشاء به سمت بالا حرکت می‌کند تا با آنتی بادی‌های ضد HBs Ag در غشاء، واکنش نشان دهد و یک خط رنگی تولید کند.

اصول ایمنی / احتیاطات

- از هر کیت فقط یک بار می‌توان استفاده نمود. برای هر نمونه باید از پمپ و کاست جداگانه استفاده کرد.
- از مخلوط کردن بافرهای مختلف با هم، باید خودداری نمود.
- از لمس مستقیم پد یا پنجره نتیجه تست با دست پرهیز شود زیرا می‌تواند به نتایج نادرست منجر شود.
- این کیت برای تشخیص آزمایشگاهی قابل استفاده است لذا بعد از اتمام تاریخ انقضاء نباید از آن استفاده شود.
- در صورتی که بسته حاوی کیت، آسیب دیده و یا دارای سوراخ یا بریدگی است، نباید از آن کیت استفاده شود.

- کیت‌های استفاده شده باید مطابق دستور و مقررات محلی (مقررات دانشگاه) منهدم شوند. بر روی همه نمونه‌ها و موادی که در حین آزمایش استفاده شده و احتمال آلودگی آنها وجود دارد باید نظارت صورت گیرد و دفع و انهدام آنها باید مطابق استاندارد باشد.
- رطوبت و دما می‌تواند بر روی نتایج آزمایش اثرات منفی داشته باشد.
- لازم است که نتیجه تست، در زمان اعلام شده قرائت شود.
- شرایط مناسب نگهداری، برای عملکرد صحیح کیت ضروریست.
- در صورت باز شدن فویل روی کیت، باید بلافاصله از کیت استفاده شود.
- باید از کیت‌ها، در شرایط محیطی تعیین شده در بروشور کیت استفاده نمود.
- از نوع نمونه درست (مطابق با اطلاعات مندرج در بروشور)، ، باید استفاده کرد.
- در هنگام بررسی نمونه‌ها و تا اتمام کار، فرد انجام دهنده آزمایش باید پوشش محافظت کننده شامل لباس مناسب کار در آزمایشگاه، دستکش یک بار مصرف (استفاده از دستکش جدید برای هر بیمار) و عینک محافظ چشم داشته باشند.
- نباید با دهان پپیت کرد.
- رعایت الزامات ایمنی مطابق با دستورالعمل ایمنی و بهداشت آزمایشگاه مرجع سلامت جهت کار کردن با مواد عفونی در حین انجام آزمایش الزامی است.
- در صورت بلع یا تماس مستقیم بافر با چشم، باید ضمن اطلاع به پزشک مرکز، بلافاصله اقدامات بهداشتی فردی از جمله شستشوی چشم / دهان با آب پاکیزه صورت پذیرد.
- از خوردن، آشامیدن یا سیگار کشیدن در جایی که نمونه‌ها یا کیت‌ها استفاده می‌شوند باید خودداری شود.
- دست‌ها باید بعد از اتمام کار به طور کامل شسته شوند.

- تمام نمونه‌ها را باید عفونی فرض نموده آنها را در Safety Box قرار داده و در هماهنگی با امور آزمایشگاه‌های بهداشتی یا آزمایشگاه مرجع دانشگاهی عملیات دفع پسماند انجام پذیرد. کیت‌ها را نباید بازیافت کرد.
- لازم است تا کلیه سطوح کاری آلوده، با استفاده از محلول ضد عفونی کننده هیپوکلرایت سدیم ضد عفونی شوند. جهت ضد عفونی نمودن سطوح می‌توان از رقت ۱۰/۱ محلول سفیدکننده خانگی به شرط اینکه دارای کلر فعال ۵٪ باشد و یا از محلول‌های تجاری استفاده نمود.

شرایط نگهداری

- کیت باید در دمای اتاق یا در یخچال (دمای ۲-۳۰ درجه سانتیگراد) نگهداری شود.
- کیت‌ها تا تاریخ درج شده بر روی بسته بندی قابل استفاده است.
- کیت باید تا زمان استفاده، در داخل بسته باقی بمانند.
- از گذاشتن کیت در داخل فریزر باید خودداری شود.
- در صورت پایان تاریخ انقضاء، نباید کیت مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

مراحل انجام کار به شرح زیر است:

۱. قبل از انجام تست موارد زیر را آماده کنید:

○ کیت جدید باز نشده

○ میکروپیپت (Micropipette)

○ پد الکلی

○ لنست (Lancet) جدید

○ دستکش جدید

○ بافر (Buffer)

○ زمان سنج (تایمر)

۲. چنانچه کیت و محلول‌های مورد استفاده در داخل کیت، در یخچال نگهداری شده است باید قبل از انجام آزمایش، همه ابزار آزمایش مورد نیاز شامل کیت، بافر و... به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۰-۱۵ درجه اتاق قرار گیرد تا به حرارت اتاق برسد.

۳. کیسه فوبلی از وسیله جدا شده و بلافاصله از کیت استفاده شود. بهترین نتیجه، زمانی حاصل می‌شود که در طی یکساعت اول باشد.

۴. مشخصات هر بیمار بر روی کاست نوشته شود. کیت را در سطحی صاف و تمیز قرار دهید.

۵. در صورتی که قرار است آزمایش با نمونه خون از نوک انگشت، انجام شود لازم است تا مراحل زیر صورت پذیرد:

- دست بیمار را با آب گرم و صابون و یا با استفاده از پنبه الکل تمیز کنید و اجازه دهید تا ناحیه خشک شود. (از فوت کردن خودداری کنید).
- بدون تماس با محلی از انگشت که قرار است سوراخ شود، بوسیله مالش دادن دست به سمت پایین نوک انگشت میانی (انگشت ۳) یا انگشت انگشتری (انگشت ۴) دست فرد را ماساژ دهید.
- پوست انگشت را با لنست استریل سوراخ کنید. اولین قطره خون را پاک کنید.
- دست را به آرامی از میچ دست به سمت کف دست و انگشت مالش دهید تا قطره خون گرد شده، روی محل سوراخ ایجاد شود.
- با چکاندن قطره خون، نمونه خون کامل را از نوک انگشت به ناحیه S کاست اضافه نمایید:
- انگشت بیمار را طوری قرار دهید که قطره خون دقیقاً بالاتر از قسمت S کاست باشد.

- از تماس مستقیم نوک انگشت با قسمت S خودداری نمایید. برای اطمینان از درست بودن حجم خون منتقل شده از نوک انگشت، توصیه می شود از لوله موئینه استفاده نمایید. از ریختن حباب هوا در قسمت S خودداری کنید.
- ۶. بافر را اضافه نمایید.
- ۷. بلافاصله زمان را ثبت کنید.
- ۸. منتظر بمانید تا خط رنگی ظاهر شود.

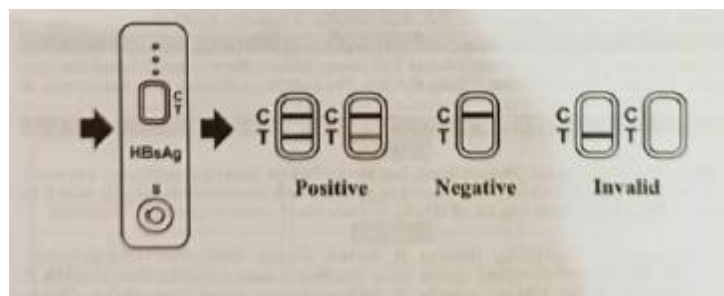
توجه بسیار مهم :

از آنجا که برند کیت مورد استفاده می تواند متفاوت باشد لذا در موارد زیر باید حتماً به بروشور مندرج در کیت استناد نمود:

۱. نوع نمونه مورد استفاده برای آزمایش (خون کامل، سرم یا پلاسما)
۲. حجم نمونه مورد نیاز
۳. تعداد قطرات بافر مورد نیاز
۴. زمان قرائت کیت (زمان شروع و خاتمه)

تفسیر نتایج:

۱. مثبت: وجود دو خط رنگی مشخص، یک خط در ناحیه کنترل (C) و یک خط دیگر در ناحیه Test (T) نشان دهنده یک نتیجه مثبت اولیه خواهد بود.



شدت رنگ در ناحیه T متفاوت بوده و وابسته به غلظت HBs Ag در نمونه است. بنابراین هر سایه رنگی در ناحیه T باید به عنوان مثبت در نظر گرفته شود.

۲. منفی: در این حالت یک خط رنگی در ناحیه C ظاهر شده ولی هیچ خط رنگی در ناحیه T ظاهر نمی‌شود.

۳. نامعتبر یا Invalid: در این حالت هیچ خطی در ناحیه خط کنترل (C) ظاهر نمی‌شود. در این جا ممکن است در ناحیه T خط وجود داشته باشد یا خطی دیده نشود در هر دو صورت نتیجه نامعتبر است. اگر این اتفاق افتاد مجدداً راهنما را قرائت کنید. سپس تست را با یک کیت جدید تکرار نمایید. اگر باز هم نتیجه نامعتبر بود، استفاده از آن کیت‌ها را متوقف نموده و هرچه سریع تر مراتب را به ناظران در دانشگاه اطلاع دهید.

در موارد بسیار نادر ممکن است خط کنترل یا تست به طور منقطع تشکیل گردد، در چنین حالتی بهتر است نمونه با یک کاست جدید تکرار شود.

کنترل کیفیت

روند کنترل داخلی در درون کیت آورده شده است. ظهور یک خط رنگی در ناحیه C به مفهوم کنترل داخلی است. استانداردهای کنترل با این کیت انجام نمی‌شود. با این وجود توصیه بر این است که کنترل مثبت و منفی توسط آزمایشگاه مرجع انجام شود.

محدودیت ها

۱. تست تشخیص سریع HBs Ag فقط برای استفاده تشخیصی در شرایط آزمایشگاهی قابل استفاده است و این تست فقط برای تعیین وجود HBs Ag در خون کامل، سرم یا پلاسما استفاده می شود. با این تست کیفی، نه مقدار کمی و نه غلظت HBs Ag قابل تعیین نیست.
۲. تست تشخیص سریع HBs Ag فقط نشان دهنده وجود HBs Ag در خون، سرم یا پلاسما است و نباید از آن به عنوان کرایتریای قطعی تشخیص عفونت با ویروس هپاتیت B استفاده کرد.
۳. با تست تشخیص سریع HBs Ag، امکان گزارش کمتر از ۱ ng/ml در نمونه (خون، سرم یا پلاسما) وجود ندارد. لذا اگر نتیجه تست منفی است ولی سمپتوم‌های (شکایات) کلینیکی وجود دارد استفاده از سایر آزمایشات پیگیری اضافی با سایر روش‌ها لازم است تا انجام گیرد. ذکر این نکته ضروری است که نتیجه منفی آزمایش به این مفهوم نیست که فرد در هیچ زمان دیگری به این بیماری مبتلا نخواهد شد، لذا باید برای مبتلا نشدن به هپاتیت B، راه‌های پیشگیری از آن را رعایت نمود.
۴. همانند همه تست‌های تشخیصی، هر نتیجه‌ای باید با اطلاعات بالینی دیگری که در اختیار پزشک است تفسیر شود.

مشخصات اجرایی:

حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity) و دقت (Accuracy) کیت‌های تشخیص سریع هپاتیت بالا بوده و بسته به نوع برند آن متفاوت می‌باشد. با بررسی های بعمل آمده در انواع کیت های موجود در کشور، حساسیت، ویژگی و دقت بالای ۹۵٪ دارند.