

راهنمای به کارگیری تست تشخیص سریع هپاتیت ویروسی C

HCV -RDT

مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر

اداره هپاتیت

دکتر حمیرا فلاحی

پاییز ۱۳۹۸

مکانیسم:

کیت تشخیص سریع HCV یک ایمنونواسی کروماتوگرافیک بر پایه ممبران (غشاء) بوده که برای تشخیص کیفی آنتی‌بادی HCV در سرم یا پلاسما مورد استفاده قرار می‌گیرد. در قسمت تست (T) کیت، ممبران با آنتی‌ژن HCV نوترکیب پوشیده شده است. در طی آزمایش، سرم یا پلاسما با ذرات پوشیده شده با آنتی‌ژن HCV نوترکیب واکنش نشان می‌دهد. با عمل موینگی، این مخلوط بر روی غشاء به سمت بالا حرکت می‌کند تا با آنتی‌ژن HCV نوترکیب روی 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 از پیپت و کاست جداگانه استفاده کنید.
- 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. بعد از اتمام تاریخ انقضاء، نباید از آن استفاده شود.
- در صورتی که کیسه حاوی کیت آسیب دیده و یا دارای سوراخ یا بریدگی است از آن کیت استفاده نشود.
- کیت‌های استفاده شده باید مطابق دستور و مقررات محلی (مقررات دانشگاه) منهدم شوند.
- رطوبت و دما می‌تواند اثرات منفی بر روی نتایج 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 استفاده شود.
- باید از کیت‌ها در شرایط محیطی تعیین شده (مندرج در بروشور کیت) استفاده نمود.

- باید از نوع نمونه درست (مطابق با اطلاعات مندرج در بروشور)، 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 پیت 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 ۱۵-۳۰ درجه

اتاق قرار گیرد تا به حرارت اتاق برسد.

۳. کیسه فویلی 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 با نمونه خون از نوک انگشت، آزمایش انجام شود لازم است مراحل زیر صورت پذیرد:

- دست بیمار را با آب گرم و صابون و یا با استفاده از پنبه الکل تمیز کنید و اجازه بدهید 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.

۶. نمونه را بوسیله یک پیپت یا قطره چکان (در صورت استفاده از سرم یا پلاسما) به قسمت S (Specimen Well) کیت منتقل کنید. سپس بافر را به آن اضافه کنید. بلافاصله زمان را ثبت کنید. از ریختن حباب هوا در قسمت S خودداری کنید.

۷. منتظر بمانید تا خط رنگی ظاهر شود.

توجه بسیار مهم :

از آنجا که برند کیت مورد استفاده می‌تواند 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)

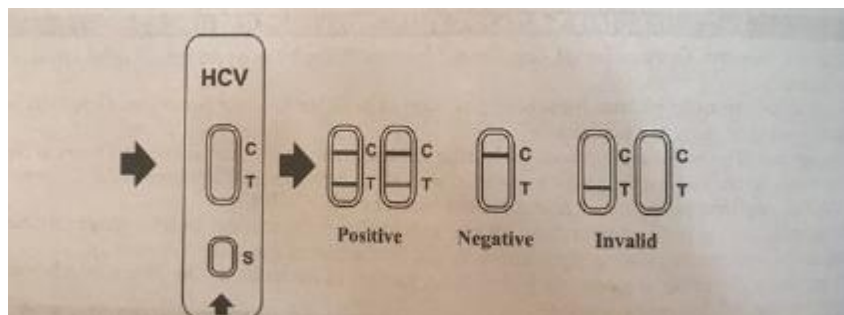
۲. حجم نمونه مورد نیاز

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 (T) Test نشان دهنده یک نتیجه مثبت اولیه خواهد بود. لازم است تا برای تشخیص قطعی مطابق دستورالعمل، تست تاییدی (PCR) HCV RNA انجام شود.



شدت رنگ در ناحیه T متفاوت بوده و وابسته به غلظت HCV Ab 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 نمی شود.

۳. نامعتبر یا Invalid: در این حالت هیچ خطی در ناحیه C ظاهر نمی شود. 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 نمی شود. با این وجود توصیه بر این است که کنترل مثبت و منفی توسط آزمایشگاه مرجع انجام شود.

محدودیت‌ها:

۱. تست تشخیص سریع (RDT) هپاتیت C فقط برای استفاده تشخیصی در شرایط آزمایشگاهی قابل استفاده است و این تست فقط برای تعیین وجود آنتی بادی HCV در سرم یا پلاسما استفاده می شود.
۲. تست تشخیص سریع (RDT) هپاتیت C فقط نشان می دهد که آنتی بادی ضد HCV در سرم یا پلاسما وجود دارد و نباید از آن به عنوان کرایتریای قطعی تشخیص عفونت با HCV استفاده کرد.

۳. همانند همه تست‌های تشخیصی، هر نتیجه‌ای باید با اطلاعات بالینی دیگری که در اختیار پزشک است تفسیر شود.

۴. اگر نتیجه تست منفی است ولی سمپتوم‌های (شکایات) کلینیکی وجود دارد پیشنهاد می‌شود تا فرد برای پیگیری و انجام آزمایشات تکمیلی توسط پزشک ویزیت شود.

۵. 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 C، راه‌های پیشگیری از آن را رعایت نمود.

مشخصات اجرایی:

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