

معرفی: این تست جهت تشخیص خون نهفته در مدفوع با استفاده از نمونه مدفوع مورد استفاده قرار میگیرد. حساسیت این تست ۵۰ ng/ml برای هموگلوبین انسانی میباشد و بر اساس روش ایمونوکروماتوگرافی عمل می نماید.

مقدمه:

سرطانهای دستگاه گوارش از جمله شایع ترین انواع سرطان بخصوص در کشورهای غربی هستند. متأسفانه این نوع سرطانها که قبلاً در ایران شایع نبوده اند، اخیراً شیوع یافته اند. تشخیص وجود خون نهفته در مدفوع بیمار روشی غیر تهاجمی و ارزان برای غربالگری و تشخیص بیماری در مراحل اولیه سرطانهای کولورکتال و نیز پولیپ های دستگاه گوارش است. این سرطانها اغلب با خونریزی های خفیف همراه بوده که تنها به روشهای شیمیایی (تست گویاک) و یا مبتنی بر روش ایمونولوژیک قابل تشخیص است. بدنبال این خونریزی های خفیف گلوبولهای قرمز لیز شده و هموگلوبین کامل یا شکسته شده، Heme و Porphyrins در مدفوع ظاهر میشود. ارجحیت تستهای ایمونولوژیک شامل دو موضوع است. اول اینکه این تستها اختصاصی برای هموگلوبین است و لذا خونریزی های قسمتهای بالایی و پایینی دستگاه گوارش را نشان میدهد. در حالیکه در خونریزی ها نواحی بسیار پایین دستگاه گوارش که در شقاق ها یا هموروئیدها رخ میدهد، گلوبولهای قرمز لیز نمی شوند و لذا Heme به صورت آزاد وجود نداشته و تست مثبت کاذب ندارد. در حالیکه تستهای شیمیایی در هر صورت تست مثبت میگردد. دوم اینکه برخلاف تست گویاک برای انجام این تست به روش ایمونولوژیک نیازی به رعایت رژیم غذایی خاص عاری از گوشت، برخی سبزیجات حاوی آهن، ویتامین C، مرکبات و... نیست.

The American College of Gastroenterology استفاده از تستهای مبتنی بر روش ایمونولوژیک را بر تست گویاک ارجح دانسته است.

اصول انجام تست:

این تست بر اساس روش ایمونوکروماتوگرافی (lateral flow immunoassay) انجام می شود و تست کیفی محسوب می شود. بر روی ذرات رنگی (قرمز) همگن پلی استیرین آنتی بادی های اختصاصی مونوکلونال موشی بر ضد آنتی ژن هموگلوبین انسانی قرار داده می شود. همچنین پروتئین خاصی نیز به ذرات دیگر پلی قرار داده میشود. این دو نوع پلی استیرین بر روی پد مخصوص اسپری شده و بر روی تست قرار میگیرد. در محل خط تست روی نوار نیتروسولوز نیز آنتی بادی موشی بر ضد اپی توپ دیگر آنتی ژن هموگلوبین انسانی اسپری شده است. همچنین در روی خط کنترل آنتی بادی خرگوشی بر ضد پروتئین خاص قرار داده شده است. هنگامی که در نمونه مدفوع مثبت باشد، آنتی بادی ضد آنتی ژن هموگلوبین انسانی به آنتی ژن مربوط متصل شده و همراه جریان بافر به سمت نیتروسولوز حرکت کرده تا به خط تست میرسد. در اینجا آنتی بادی موجود به اپی توپ دیگر آنتی ژن هموگلوبین انسانی متصل شده و در نتیجه ذرات رنگی پلی استیرین در کنار هم قرار گرفته و ایجاد رنگ قرمز در این ناحیه میکند. مابقی ذرات پلی استیرین به حرکت خود ادامه داده و بر روی خط کنترل آنتی بادی ضد پروتئین مخصوص متصل شده به ذرات پلی استیرین با پروتئین مخصوص روی خط کنترل تثبیت می شوند و خط کنترل را نیز بوجود خواهند آورد. چنانچه در مدفوع هموگلوبین انسانی وجود نداشته باشد، واکنشی در خط تست ایجاد نمی شود. ولی همچنان واکنش در خط کنترل ایجاد میگردد.

اجزا موجود در تست:

- ۱- کاست تست
- ۲- بالشتک حاوی سیلکاژل (رطوبت گیر)
- ۳- ویال حاوی بافر مخصوص

نحوه نمونه گیری:

- ۱- نمونه مدفوع باید در حدود ۲۵۰ میلی گرم و ترجیحاً در روز آزمایش تهیه شده باشد.
- ۲- در صورتی که زمان نمونه گیری از زمان انجام آزمایش بیش از ۲ ساعت فاصله داشته باشد، بهتر است نمونه در دمای ۲ تا ۸ درجه و حداکثر برای یک تا دو روز نگهداری شود.

نحوه انجام تست :

- ۱- ویال قطره چکان دار را باز کنید.
- ۲- یک میلی لیتر از بافر مخصوص را در ویال بریزید.
- ۳- نمونه مدفوع را آماده نمایید. در نظر داشته باشید بافر ، نمونه و کاست بایستی به دمای اتاق برسند.
- ۴- سواپ را در مدفوع مورد آزمایش فرو کنید، بطوریکه حداکثر ۵ میلی متر از سواپ داخل مدفوع قرار گیرد و به آهستگی آنرا به طرفین بچرخانید.
- ۵- سواپ آغشته به مدفوع را در ویال حاوی بافر قرار داده و در حدود ۱ دقیقه آنرا در داخل ویال تکان دهید.
- ۶- قطره چکان را بر روی ویال ببندید و سپس خوب تکان دهید تا محلول یکنواختی تهیه گردد.
- ۷- کاست مخصوص تست را از محفظه پوچ خارج کنید و به صورت افقی روی میز قرار دهید.
- ۸- ویال قطره چکان دار را باز نمایید و ۱ الی ۲ قطره از بافر مخلوط شده با مدفوع را بوسیله قطره چکان کشیده و در حفره بیضی شکل روی کاست بریزید.
- ۹- **حدوداً ۱۰ دقیقه** صبر نموده و سپس جواب تست را بخوانید.
- ۱۰- ممکن است تکنسین آزمایشگاه در هنگام آماده سازی مدفوع (مراحل ۴-۶) خوب عمل نکرده و در نتیجه محلول یکنواخت در ویال ایجاد نشده باشد. در این صورت تکه های جامد مدفوع ممکن است در داخل حفره بیضی تشکیل شده و مانع است بالا رفتن محلول در طول تست گردد. لذا چنانچه خطی تشکیل نشد ، سواپ را به آرامی در حفره بیضی فرو کرده و کمی تکان دهید. در صورتی که باز محلول در طول تست بالا نرفت یک قطره بافر به حفره بیضی اضافه کنید.

خواندن نتایج تست:

تست مثبت : ظهور دو خط صورتی رنگ

تست منفی : فقط یک خط پصورتی رنگ در بالا

تست مثبت ضعیف : یک خط پر رنگ در بالا و یک خط کم رنگ در پایین

چنانچه اصلاً خطی ظاهر نشود و یا تنها خط پایینی ظاهر شود ، در این حالت تست باید تکرار شود.

تاکید می شود جوابها باید قبل از **۱۰ دقیقه** خوانده شود. تفسیر نتایج با پزشک معالج خواهد بود.



حساسیت و مشخصات تست:

این تست با تست ELISA مورد مقایسه قرار گرفته است . نمونه های ارجاع شده به آزمایشگاه بهمن بطور همزمان با این تست مقایسه شده اند. در مجموع از ۸۴ نمونه استفاده شد و نتایج به شرح زیر است:

جدول ۱: محاسبه دقت تست

| Method | ELISA | | Total Result | |
|-------------------------|----------|----------|--------------|----------|
| | Results | Positive | | Negative |
| FD FOB stool Rapid Test | Positive | 17 | 0 | 17 |
| | Negative | 0 | 118 | 118 |
| Total Result | | 17 | 118 | 135 |
| % agreement | | >99% | >99% | >99% |

| FD FOB vs ELISA | Sensitivity | Specificity | PPV | NPV |
|-----------------|-------------|-------------|------|------|
| | >99% | >99% | >99% | >99% |