

معرفی :

این تست جهت تشخیص کیفی H.pylori با استفاده از مدفوع مورد استفاده قرار می گیرد. حساسیت این تست 15 ng/ml می باشد این تست بر اساس روش ایمنونوکروماتوگرافی عمل می نماید.

جمعیت هدف آزمایش: افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه یا درمانگاهها برای تشخیص وجود یا عدم وجود باکتری H.pylori در دستگاه گوارش میباشد. این روش به عنوان یک روش تشخیص وجود آنتی ژن H.pylori در نمونه مدفوع انسان طراحی شده و بایستی به نکات توصیه شده در بروشور توجه شود. استفاده از این تست بسیار آسان بوده و کاربرد مورد نظر نیاز به آموزش ساده در خصوص نحوه کار با تست و تفسیر نتیجه دارد.

مقدمه: باکتری اسپیرال (فتری) شکلی است که در مخاط معده و یا جسیده به لایه اپیتلیوم مخاط در افراد مبتلی به زخم معده و یا دوازدهه وجود دارد. H. pylori عامل ۹۰٪ اولسر (زخم) های دوازدهه و ۸۰٪ اولسرهاى معده میباشد. ارتباط بسیار قوی و اثبات شده ای میان وجود این باکتری و بیماریهای معده و دوازدهه از قبیل گاستریت، اولسرهاى پپتیک و سرطان های قسمت فوقانی دستگاه گوارش وجود دارد. بخش مهمی از درمان این بیماریها وابسته به تشخیص این باکتری و نابود کردن آن از طریق تجویز آنتی بیوتیک و سایر داروها میباشد.

برای تشخیص H.pylori از روش های متعددی استفاده می شود. در تست تنفسی اوره حاوی کربن نشاندار بر مریض داده میشود. میکروب با آنزیم اوره آز، اوره را تجزیه کرده که حاصل آن CO2 حاوی کربن نشاندار است که در بازدم بیمار دفع و اندازه گیری می شود. نکته منفی این روش قیمت بالا و ورود ماده رادیو اکتیو به بدن بیمار است. روش دیگر تست اوره آز است که لازمه آن انجام آندوسکوپی و نمونه برداری از محل زخم است. این نمونه از نظر وجود آنزیم اوره آز مورد بررسی قرار میگیرد. نکات منفی این روش قیمت گران و نیز تهاجمی بودن به دلیل انجام آندوسکوپی است. روش دیگر، تست سرمی است که طی آن سرم بیمار از نظر وجود IgG و IgM بر علیه آنتی ژن های H.pylori مورد آزمایش قرار میگیرد. از آنجا که آنتی بادی ها با تاخیر در بدن بیمار ایجاد شده و پس از درمان هم تا مدتها در بدن بیمار وجود دارد، لذا رابطه واضحی بین مثبت بودن تست و وجود H.pylori در مخاط بیمار، حداقل در کوتاه مدت، وجود ندارد. تست مدفوعی H.pylori وجود آنتی ژن را در مدفوع آشکار میسازد و روش ایمنونوکروماتوگرافی انجام آن را بسیار ساده و به نسبت سایر روش ها ارزان مینماید.

اصول انجام تست:

این تست بر اساس روش ایمنونوکروماتوگرافی (lateral flow immunoassay) انجام می شود و تست کیفی محسوب می شود. بر روی ذرات رنگی (قرمز) همگن پلی استیرن آنتی بادی های اختصاصی مونوکلونال موشی بر ضد آنتی ژن H.pylori قرار داده می شود. همچنین پروتئین خاصی نیز به ذرات دیگر پلی قرار داده میشود. این دو نوع پلی استیرن بر روی پد مخصوص اسپری شده و بر روی تست قرار میگیرد. در محل خط تست روی نوار نیتروسلولز نیز آنتی بادی موشی بر ضد ایی توپ دیگر آنتی ژن H.pylori اسپری شده است. همچنین در روی خط کنترل آنتی بادی خرگوشی بر ضد پروتئین خاص قرار داده شده است. هنگامی که نمونه مدفوع مثبت باشد، آنتی بادی ضد آنتی ژن H.pylori به آنتی ژن مربوط متصل شده و همراه جریان بافر به سمت نیتروسلولز حرکت کرده تا به خط تست میرسد. در اینجا آنتی بادی موجود به ایی توپ دیگر آنتی ژن H.pylori متصل شده و در نتیجه ذرات رنگی پلی استیرن در کنار هم قرار گرفته و ایجاد رنگ قرمز در این ناحیه میکند. باقی ذرات پلی استیرن به حرکت خود ادامه داده و بر روی خط کنترل آنتی بادی ضد پروتئین مخصوص متصل شده به ذرات پلی استیرن با پروتئین مخصوص روی خط کنترل تثبیت می شوند و خط کنترل را نیز بوجود خواهند آورد. چنانچه در مدفوع H.pylori 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
- ۴- بروشور

نحوه نمونه گیری:

- ۱- نمونه مدفوع باید در حدود ۲۵۰ میلی گرم و ترجیحا 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 :

نمونه مدفوع را آماده نمایید. در نظر داشته باشید بافر، نمونه و کاست بایستی به دمای اتاق برسند.

- ۱- در پوش ویال حاوی بافر را باز کنید.
- ۲- سواب متصل به درپوش ویال را در مدفوع مورد آزمایش فرو کنید، بطوریکه حداکثر ۵ میلی متر از سواب داخل مدفوع قرار گیرد و به آهستگی آنرا به طرفین بچرخانید.
- ۳- درپوش سواب آغشته به مدفوع را در ویال بافر قرار داده، آن را محکم بسته و در حدود ۱ دقیقه تکان دهید تا مدفوع در بافر سوسپانسیون یکنواخت، زرد کمرنگ و کاملا بدون قطعات مدفوع تشکیل دهد.

۴- کاست مخصوص تست را از محفظه پوچ خارج کنید و به صورت افقی روی میز قرار دهید.

۵- قطعه فوقانی در پوش را بشکنید و از ویال به صورت قطره چکان استفاده کنید. ۱ الی ۲ قطره از بافر مخلوط شده با مدفوع را در حفره بیضی شکل روی کاست بریزید.

۶- **حدوداً ۱۰ دقیقه** صبر نموده و سپس جواب تست را بخوانید.

۷- 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 از 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 مجدداً 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.



Sensitivity and Specificity

این تست با تست مشابه مورد مقایسه قرار گرفته است و نتایج به شرح زیر است:

جدول ۱: محاسبه دقت تست

Farafan H.pylori Test				Total Result		
Approved Similar H.pylori Stool Rapid Test	Results	Positive	Negative		PPV	98.38%
		Positive	61	1	62	NPV
	Negative	1	75	76		
Total Result		62	76	138		
		Sensitivity	Specificity			
		98.38%	98.68%			

تکرار پذیری

Intra Assay: دقت Within Run بر روی ۱ نمونه منفی ، ۱ نمونه مثبت ضعیف و ۱ نمونه مثبت قوی هر کدام ۲۰ بار انجام گردید که دقت آن $>99\%$ بود.

Inter Assay: دقت Between Run بر روی ۱ نمونه منفی ، ۱ نمونه مثبت ضعیف و ۱ نمونه مثبت قوی با استفاده از ۳ بیج (LOT) مختلف تست H.pylori و هر کدام ۱۰ بار انجام گردید ، که دقت آن $>99\%$ بود.

انبارش و پایداری

این تست بایستی در دمای اتاق ۲۰-۳۰ سانتی گراد نگهداری گردد. به شرط سالم بودن ساشه بسته بندی ، تا زمان انقضا درج شده بر روی ساشه پایدار می باشد. همچنین از فریز کردن تست ، قرار دادن در معرض نور مستقیم آفتاب ، حرارت و رطوبت خودداری نمایید. پس از باز نمودن ساشه بسته بندی حداکثر ظرف مدت ۱ ساعت بایستی از تست استفاده نمود.

جدول علائم

IVD	کیت تشخیص سریع	دمای نگهداری کالا	قابل بازیافت	تولید کننده (ایران)	نگهداری در محل خشک
-----	----------------	-------------------	--------------	---------------------	--------------------

شرکت تولیدی پژوهشی فرافان تشخیص

تهران - شهرک صنعتی عباس آباد

تلفن : ۰۲۱ ۸۳۰۱۰۶۰-۶۱

www.farafandiag.com