

آنچه در پی می‌آید ترجمه نوشته‌ای است در دو بخش که به تازگی در ارتباط با آزمایش‌های کووید-۱۹ توسط آقای دکتر وین دیمک (Wayne Dimech) نوشته شده است و در وبسایت وستگارد منتشر شده است. دکتر دیمک مدیر اجرایی، علمی و ارتباطات تجاری در آزمایشگاه مرجع ملی استرالیا (NRL) است. NRL یکی از آزمایشگاه‌های دارای تخصص در ارزشیابی کیت‌های بیماری‌های عفونی است و در این راستا با WHO همکاری می‌کند.

ترجمه این مطلب به منظور تقدیم به آزمایشگاهیان ایران از طریق انتشار در فضای مجازی با اجازه و البته استقبال گرم نویسنده انجام شده است؛ امری که موجب کمال تشکر بنده از ایشان و NRL است.

چنانچه همکاران گرامی این نوشته را سودمند می‌بینند، خواهشمندم به منظور بهرمندی هر چه بیشتر دیگر همکاران، آن را در فضای مجازی انتشار دهند.

حسن بیات

## دانستی‌های اساسی در باره آزمایش‌های کووید-۱۹

Wayne Dimech, B. Appl Sci.; MASM; MBA; FAIMS; FRCPA (science faculty)  
April 2020

<https://www.westgard.com/covid-19-test-test-test.htm>



### بخش اول: آزمایش کردن برای کووید-۱۹

"آزمایش کنید، آزمایش کنید، آزمایش کنید." این توصیه تئودور آدهانوم گیبر سوس مدیر کل سازمان بهداشت جهانی (WHO) است. طی ماه‌های گذشته، رسانه‌های خبری پر بوده است از گزارش‌های تحسین‌آمیز در باره تولید آزمایش‌های جدید برای کووید-۱۹؛ آزمایش‌های ۵ دقیقه‌ای؛ نیاز به فقط یک قطره خون؛ مراسم عکاسی از مدیران اجرایی شرکت‌های سازنده کیت‌ها در رزگاردن. آزمایش‌های آزمایشگاهی در خط مقدم پاسخ جهانی به پاندمی کووید-۱۹ قرار گرفته‌اند. در این شرایط بی‌سابقه، شناخت نقش آزمایش بسیار مهم است و بسیار حیاتی است که فرض نکنیم که در این مراحل اولیه یک عفونت جدید و در حال برآمدن، آزمایش‌ها همواره درست هستند.

ابتدا یک معرفی کوتاه. من از اوایل دهه ۱۹۸۰ یک متخصص میکروبیولوژی پزشکی بوده‌ام و طی دو دهه گذشته در آزمایشگاه سرولوژی مرجع ملی استرالیا (NRL)، یک مرکز غیر انتفاعی و همکار WHO، کار کرده‌ام. این آزمایشگاه در ملبورن استرالیا قرار دارد و مأموریت آن ارتقا کیفیت آزمایش‌های بیماری‌های عفونی در سطح جهان است. NRL به طور فعال با WHO، مرکز مراقبت و پیشگیری از بیماری‌های آمریکا (CDC)، و سازمان‌های غیر دولتی (NGO) مانند بنیاد Merieux (لیون، فرانسه) و FIND (ژنو،

سوئیس) همکاری می‌کند. ما بر آزمایشگاه‌های بیماری‌های عفونی استرالیا که توسط دولت استرالیا برپا شده‌اند نظارت می‌کنیم، و همکاری تنگاتنگی با اغلب شرکت‌های سازنده لوازم تشخیص برون‌بدنی (IVD؛ یا کیت‌های آزمایش) داریم و در این راستا طراحی و اجرای برنامه‌های ارزیابی کیت‌های آزمایش را از طرف این شرکت‌ها انجام می‌دهیم. NRL یکی از معدود آزمایشگاه‌های دارای مجوز در سطح جهان است که به نیابت از برنامه پیش‌ارزیابی WHO<sup>1</sup> کیت‌های آزمایش را ارزشیابی می‌کنند. شناختن عملکرد کیت‌های آزمایش و زیر نظر گرفتن عملکرد آن‌ها کار معمول ماست.

برای این که بتوانیم تأثیری را که اضطراب کووید-۱۹ بر کیفیت آزمایش کردن گذاشته است درک کنیم مهم است اندکی در باره آزمایش‌های کووید-۱۹ بدانیم. من برای کسانی که ارتباط نزدیکی با آزمایش و آزمایشگاه ندارند، جوانب مختلف آزمایش‌های کووید-۱۹ را توضیح خواهم داد. در ابتدا، حدود ۵-۱۴ روز پیش از ظهور علائم بیماری، ویروس در سلول‌های عقب بینی و حلق رشد می‌کند. می‌توان از بینی یا حلق یک سوآب گرفت و اسید نوکلئیک ویروس را جدا کرد. از چند روز پیش از ظهور علائم تا هشت روز پس از علائم ویروس قابل جدا سازی است. البته، این دوره جدا سازی بستگی خواهد داشت به حساسیت آزمایش اسید نوکلئیک (NAT)، کیفیت نمونه‌گیری و مقدار ویروس در زمان نمونه‌گیری. هنگامی که پاسخ آنتی‌بادی شروع می‌شود، ویروس از بدن پاکسازی می‌شود. هنگامی که ویروس دیگر در بینی/حلق وجود نداشته باشد، NAT منفی خواهد شد. در واکنش اولیه به این پاندمی، دستورکارهایی برای NAT منتشر شد که توسط آزمایشگاه‌هایی تهیه شده بود که یکی از چندین روش توصیف شده توسط WHO، موسسه ویروس شناسی Charité آلمان، دانشگاه هنگ‌کنگ (HKU)، CDC آمریکا، و غیره را به کار می‌برند. آزمایشگاه‌های دیگری هستند که روش‌های طراحی شده توسط خودشان را به کار می‌برند.

بخش‌های مختلف اسید نوکلئیک ویروس می‌تواند هدف NAT باشد که این می‌تواند بر عملکرد این آزمایش‌ها تأثیر بگذارد، به ویژه در مورد واکنش متقاطع با ویروس‌های مشابه دیگر. اگر یک آزمایش اختصاصیت کمتری داشته باشد ممکن است میزان نتایج مثبت کاذب آن زیاد باشد. اگر یک روش برای شناسایی یک بخش ثابت از سکانس ویروسی طراحی نشده باشد و آن بخش تغییر کند، آنگاه ممکن است آن روش برخی از مثبت‌های واقعی را شناسایی نکند. راه‌اندازی NAT‌هایی که توسط آزمایشگاه‌ها طراحی شده‌اند دسترسی به آزمایشی را که بیش از هر چیز مورد نیاز است ممکن ساخت. متأسفانه، آزمایش CDC در ابتدا با مشکلاتی مواجه شد که به تأخیر در جوابدهی منجر شد و این نکته را برجسته کرد که حتی در بهترین آزمایشگاه‌ها نیز ممکن است کارها اشتباه از آب دربیاید. این آزمایش‌های "خانه پرورده" یا "خانگی" باید در آزمایشگاه‌های دارای تجهیزات ویژه و دانشمندان و تکنسین‌های متبحر استفاده شود. به تازگی، سازندگان IVD توانسته‌اند NAT‌هایی را طراحی کنند که می‌توان تحت فرآیندهای سختگیرانه تولید آن‌ها را در مقیاس وسیع تهیه و انبار کرد. این امر به افزایش سریع و دسترسی آزمایشگاه‌های بیشتر و بهره‌گیری از دستگاه‌های خودکار سنجش منتهی شده است.

به طور کلی در عفونت‌های ویروسی، حدود زمانی که علائم بروز می‌کند، در نتیجه یک سلسله‌سلسله واکنش‌های پیچیده شیمیایی، گلوبول‌های سفید ساختن آنتی‌بادی علیه بخش‌هایی از ویروس را شروع می‌کنند. در ابتدا این آنتی‌بادی‌ها نسبتاً غیراختصاصی هستند و علاوه بر این که علیه بخش‌های معینی از ویروس به نام آنتی‌ژن واکنش می‌دهند ممکن است با آنتی‌ژن‌های غیر کووید-۱۹ با ساختار مشابه نیز واکنش متقاطع بدهند. به مرور زمان پاسخ آنتی‌بادی بالغ می‌شود و اختصاصی‌تر و هدفمندتر علیه آنتی‌ژن‌های ویروسی کووید-۱۹ عمل می‌کند. البته هنوز این احتمال هست که این آنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های ویروس‌هایی از همان خانواده (غیر از کووید-۱۹) واکنش متقاطع بدهند. چند نوع آنتی‌بادی به نام IgM و IgG وجود دارد. آنتی‌بادی‌های IgM معمولاً اولین آنتی‌بادی‌هایی هستند که قابل شناسایی هستند، اما گذرا هستند و پس از چند هفته غیر قابل شناسایی می‌شوند. IgG حدود زمان برطرف شدن علائم تولید می‌شود و تا مدتی به افزایش ادامه می‌دهد. به طور کلی، IgG در گردش خون فرد قابل شناسایی باقی می‌ماند. IgA نوع دیگری از آنتی‌بادی است که توسط غشای مخاطی در بینی و حلق ترشح می‌شود، اما در خون نیز یافت می‌شود. از آزمایش آنتی‌بادی‌ها (آزمایش‌های سرولوژی) می‌توان برای پی بردن به مواجهه فرد با یک عفونت خاص استفاده کرد. این آزمایش‌ها ابزار مهمی هستند برای تعیین این که چند درصد افراد دارای آنتی‌بادی‌های IgG هستند و بنا بر این ایمن در نظر گرفته می‌شوند، و به طور بالقوه می‌توان به ایشان اجازه داد که به فعالیت‌های معمول بازگردند، و نیز ابزار مهمی هستند برای تخمین ایمنی جمعی (شیوع سرمی، seroprevalence)، یعنی تعیین زمانی که درصد کافی از جمعیت ایمنی دارند طوری که انتقال را کند یا متوقف می‌کند. شناسایی آنتی‌بادی‌های مختلف ممکن است برای شناسایی افرادی که به تازگی عفونی شده‌اند (با تعیین IgM و احتمالاً IgA) از کسانی که در

<sup>1</sup> WHO Prequalification Program

گذشته عفونت داشته‌اند کمک کننده باشد. این امر پس از این که پاندمی فروکش کرد و احتمالاً یک موج جدید برآمد خیلی مهم خواهد بود.

آزمایش‌های سرولوژی به اشکال گوناگون هستند. برخی یکی از کلاس‌های ایمونوگلوبولین‌ها را شناسایی می‌کنند، برخی دیگر همه انواع را شناسایی می‌کنند (آزمایش‌های توتال آنتی‌بادی‌ها) بدون مشخص کردن این که چه نوعی شناسایی شده است، و برخی نیز هر کلاس را به طور انفرادی شناسایی می‌کنند. در حال حاضر، عمده آزمایش‌های کووید-۱۹ آزمایش‌های سریع (RDT<sup>2</sup>) هستند، شبیه آزمایش‌های بارداری که خود اشخاص انجام می‌دهند. RDTها معمولاً به یک قطره خون از نوک انگشت نیاز دارند. اگرچه این‌ها نسبتاً سریع هستند و انجام آن‌ها کمتر از ۱۵ دقیقه زمان می‌برد، اما اغلب به صورت تک تک یا در گروه‌های کوچک انجام می‌شوند. لازم است توجه شود که از زمان وقوع کووید-۱۹ تعداد به طور نامعمول زیادی RTD وارد بازار شده است، از جمله آن‌هایی که توسط شرکت‌هایی ساخته شده‌اند که در گذشته در این زمینه فعال نبوده‌اند. کیفیت این آزمایش‌ها معلوم نیست. سازندگان IVD بزودی آزمایش‌هایی برای سنجش آنتی‌بادی‌ها در آزمایشگاه‌ها روانه بازار خواهند کرد که می‌توان آن‌ها را با تعداد زیاد و بر روی دستگاه‌های خودکار استفاده کرد. یکی از چنین آزمایش‌هایی قبلاً وارد بازار شده است (SNIBE Diagnostic). این امر امکان انجام وسیع‌تر آزمایش‌های سرولوژی را فراهم خواهد ساخت.

کوتاه این که آزمایش‌های کووید-۱۹، مانند آزمایش‌های دیگر بیماری‌های عفونی، پیچیده است و لازم است از جزئیات عملکرد کیت‌های مورد استفاده آگاه شد. غربالگری اولیه برای کووید-۱۹ از طریق شناسایی اسید نوکلئیک و پروسی در سوآب‌های بینی و/یا حلق انجام می‌شود. آزمایش NAT هم به طور خانگی توسط آزمایشگاه قابل ساخت است و هم توسط سازندگان آزمایش‌های تجاری. یک آزمایش سوآبی که فقط می‌تواند ویروس را در مقادیر زیاد شناسایی کند در اوایل و/یا اواخر عفونت ممکن است بیمار را شناسایی نکند و درستی آن به کیفیت نمونه‌ها بستگی خواهد داشت. آزمایش‌های خون، آنتی‌بادی‌ها علیه ویروس را شناسایی می‌کنند. انواع گوناگونی از آنتی‌بادی‌ها را می‌توان شناسایی کرد، چه به صورت یک مجموعه یا به صورت جداگانه. در حال حاضر آزمایش‌های سرولوژی به صورت PoCTهایی هستند که از نمونه خون نوک انگشت استفاده می‌کنند، اما آزمایش‌های سرولوژی برای استفاده در آزمایشگاه با توانایی انجام تعداد زیادی نمونه در راه هستند. از آنجایی که نشانگرهای مختلف بیماری در زمان‌های مختلف قابل شناسایی هستند، هر یک از این آزمایش‌ها در مراحل مختلفی از بیماری مثبت خواهد بود. بنا بر این، اگرچه گفته "آزمایش کنید، آزمایش کنید، آزمایش کنید" اساساً درست است، اما لازم است با احتیاط‌هایی همراه شود: "آزمایش کنید" - با به کار بردن هر کیت آزمایش برای مقصود اعلام شده‌اش؛ "آزمایش کنید" - با علم به این که آزمایش را برای شناسایی چه چیزی انجام می‌دهید و این که محدودیت‌های آن آزمایش چه هستند؛ و "آزمایش کنید" - با کیت‌های آزمایش با کیفیت شناخته شده.

## بخش دوم: حفظ کیفیت آزمایش کردن در شرایط اضطراری

<https://www.westgard.com/covid-19-maintaining-quality.htm>

آیا روانه شدن تعداد بسیار زیادی کیت‌های آزمایش کووید-۱۹، با به اصطلاح ابزار تشخیصی برون‌بدنی (IVDs) به بازار مطمئناً چیز خوبی است؟ خوب، بله و نه. من یک راز تجارت را با شما در میان می‌گذارم. هیچ آزمایشی ۱۰۰٪ حساس و اختصاصی نیست. به بیان دیگر همه آزمایش‌ها، هم تعدادی مثبت کاذب و هم تعدادی منفی کاذب گزارش خواهند کرد؛ البته برخی آزمایش‌ها بیشتر از بقیه. مثل فعالیت‌های دارویی، فروش IVDها نیز در کشورهایی که دارای سامانه‌های نظارتی پیشرفته هستند، مانند اروپا، آمریکا، استرالیا، ژاپن، کره و دیگران، تحت نظارت شدید است. بسته به این که مخاطره ناشی از نتایج کاذب برای فرد و/یا جامعه چقدر است نظارت سختگیرانه متناسبی بر فروش IVDها اعمال می‌شود. سامانه‌های نظارت بر IVD در برخی از کشورها نابالغ است و در برخی دیگر وجود ندارد. دولت‌های چنین کشورهایی اغلب کیت‌های آزمایش را از طریق مناقصه انتخاب می‌کنند که در آن ارزانترین محصولات

<sup>2</sup> Rapid Diagnostic Test

انتخاب می‌شوند نه بهترین گزینه برای کاربرد مورد نظر. در واکنش به چنین وضعیتی، سازمان بهداشت جهانی (WHO) برنامه پیش‌ارزیابی IVD را راه‌اندازی کرده است. WHO و آزمایشگاه‌های همکاری‌مانند NRL برای کمک به دولت‌ها و NGOها در تصمیم‌گیری آگاهانه هنگام خرید کیت‌ها، عملکرد IVDها را بررسی و نتایج را در دسترس عموم قرار می‌دهند.

IVDهای HIV و هپاتیتی و همه کیت‌های آزمایش برای غربالگری انتقال خون به شدت نظارت می‌شوند زیرا یک نتیجه منفی در این موارد می‌تواند به هر دوی فرد و جامعه آسیب برساند. سایر بیماری‌های عفونی در درجات پائین‌تری دسته‌بندی می‌شوند، و آزمایش‌های خون مثلاً برای گلوکز یا نشانگرهای عملکرد کبدی/کلیوی حتی در سطوح پائین‌تری قرار می‌گیرند. برای ثبت یک کیت آزمایش برای ارگان‌های با مخاطره بالا، سازنده باید گواهی بین‌المللی برای سازندگان را داشته باشد (ISO 13485)، پرونده‌ای را به ناظر ارائه دهد حاوی شواهد کامل در باره عملکرد، برگه راهنما یا دستور استفاده (IFU<sup>3</sup>) که از نظر روشن بودن و کامل بودن بررسی شده باشد و از همخوانی آن با الزامات تایید شده باشد. همچنین ارزیابی مخاطره برای بررسی ایمن بودن IVD انجام می‌شود. غالباً شرکت سازنده از نظر رعایت استاندارد مربوط ارزیابی می‌شود. ثبت IVDها پیچیده و هزینه‌بر است، اما به منظور به حداقل رسانیدن مخاطره ناشی از آزمایش‌هایی با عملکرد ضعیف که وارد بازار می‌شوند و استفاده نادرست از IVDها لازم است. به منظور کاستن از هزینه‌های نظارتی بر سازندگان IVDها، یک کارگروه جهانی هماهنگ‌سازی تشکیل شد که هدف آن این بود که سازمان‌های نظارتی در کشورهای مختلف را ترغیب کند که ثبت IVDها در دیگر کشورهای عضو را به رسمیت بشناسند؛ اکنون مجمع بین‌المللی ناظران تجهیزات پزشکی (IMDF<sup>4</sup>) جایگزین آن کارگروه شده است. اکثر اقتصادهای پیشرو عضو IMDF هستند.

هر IVD برای یک "کاربرد مورد نظر" ثبت می‌شود، و آزمایشگاه‌ها قانوناً حق ندارند آن را برای مقاصد دیگر به کار ببرند. چنانچه تغییراتی بر یک IVD اعمال شود، آنگاه آن IVD به عنوان یک آزمایش "خانگی" به شمار می‌آید و بنا بر این "بیرون از گواهی" سازنده به کار برده می‌شود و مسئولیت کیفیت نتایج آزمایش و هر گونه پیامدی برای بیماران بر عهده آزمایشگاه خواهد بود. برخی کشورها، از جمله استرالیا، الزامات خاصی در مورد استفاده از آزمایش‌های "خانگی" دارند. سازندگان IVDهای مخاطره بالا باید شواهد علمی مربوط به عملکرد کیت آزمایش و مناسب بودن آن برای "کاربرد مورد نظر" را که در IFU قید شده است ارائه دهند. مثال‌هایی از عملکرد مورد نظر عبارتند از: غربالگری اهدای خون و بافت؛ آزمایش کلی برای مقاصد تشخیصی؛ پیگیری موثر بودن درمان یا پیشرفت بیماری؛ آزمایش تاییدی؛ آزمایش سریع در محل مراقبت برای آزمایش کردن عموم؛ یا صرفاً برای استفاده در منزل. بسته به IVD و کاربرد مورد نظر، طیفی از شاخصه‌های عملکردی ممکن است ارزیابی شود، شامل:

- **حساسیت Sensitivity** - توانایی یک آزمایش در گزارش کردن یک نتیجه مثبت برای یک نمونه مثبت واقعی؛
- **اختصاصیت Specificity** - توانایی یک آزمایش در گزارش کردن یک نتیجه منفی برای یک نمونه منفی واقعی؛
- **دقت Precision** - میزان نوسان ذاتی آزمایش؛
- **تورش Bias** - درستی آزمایش در مقایسه با نتایج واقعی (معمولاً به دست آمده از روش مرجع یا استاندارد)؛
- **حد شناسایی Limit of Detection (LOD)** - معیاری برای کمترین مقدار آنالیت که کیت آزمایش می‌تواند شناسایی کند؛
- **حد تعیین مقدار Limit of Quantification (LOQ)** - معیاری برای کمترین مقدار آنالیت که کیت آزمایش می‌تواند تعیین مقدار کند (معمولاً با اطمینان ۹۵٪)؛
- **خطیت Linearity** - بیان این که به موازات افزایش مقدار آنالیت، سیگنال به طور متناسب افزایش می‌یابد؛
- **واکنش متقاطع Cross Reaction** - این که آیا آنالیت‌هایی غیر از آنالیتی که باید شناسایی شود سبب گزارش نتایج مثبت می‌شوند. در برخی وضعیت‌های بیماری مانند بیماری‌های اتوایمیون، یا عفونت‌های ناشی از ارگان‌های ششیه به ارگان‌های ششیه که باید شناسایی شود این حالت رایج است؛

<sup>3</sup> Instruction for use (IFU)

<sup>4</sup> International Medical Device Regulators Forum (IMDF)

- **تنوع سروتایپ/ژنوتایپ Serotype/Genotype variation** – بسیاری از ارگاناسم‌ها تعدادی سروتایپ یا ژنوتایپ در گردش دارند، که ممکن است کیت‌های آزمایش که به طور ضعیف طراحی شده‌اند قادر به شناسایی همه آن‌ها نباشند؛
- **پایداری Stability** – ایجاد اطمینان از این که معرف‌ها پایدار هستند و به مرور زمان خراب نمی‌شوند.

البته همه این شاخصه‌های عملکردی برای همه کیت‌های آزمایش مربوط نیستند، اما وقتی که هستند، باید مصرف‌کننده آن‌ها را بشناسد تا بتواند تفسیر درستی از نتایج داشته باشد. بیشتر این شاخصه‌ها خود گویا هستند، اما در اینجا مرور مختصری بر این که چگونه هر یک از این‌ها می‌تواند در آزمایش کووید-۱۹ مهم باشد ارائه می‌شود.

حساسیت و اختصاصیت از شاخصه‌های مهم در مورد تقریباً همه کیت‌های آزمایش هستند. برای تخمین این شاخصه‌ها، دسترسی به تعداد زیادی از نمونه‌های مثبت و منفی شناخته شده لازم است. اخیراً، «الزامات فنی رایج» اروپایی حدود ۵۰۰ نمونه مثبت و ۵،۰۰۰ نمونه منفی را برای ارزیابی اختصاصیت و حساسیت روش‌های غربالگری خون لازم می‌داند. در مورد آزمایش‌های تشخیصی سریع (RDT) برای HIV، HCV، HBsAg، ۵۰۰ نمونه مثبت و ۱،۵۰۰ نمونه منفی لازم است؛ با حساسیت منتظره بیش از ۹۹٪. نمونه‌های اهدا کنندگان خون، نمونه‌های بالینی، نمونه‌های بارداران و نمونه‌های حاوی مواد بالقوه مداخله‌گر باید به طور مشخص در بررسی گنجانده و آزمایش شوند. در مورد روش‌های NAT برای HIV RNA، HCV RNA و HBV DNA لازم است با استفاده از استانداردهای بین‌المللی LOD برآورد شود، و نیز برای روش‌های کمی باید LOQ برآورد شود. حداقل باید ۱۰ نمونه برای هر ژنوتایپ HIV آزمایش شود تا بتوان توانایی شناسایی یکسان همه ژنوتیپ‌ها را نشان داد. برای نشان دادن اختصاصیت، نمونه‌های دارای مواد مداخله‌گر و آنالیت‌هایی که واکنش متقاطع می‌دهند آزمایش می‌شوند. مطالعه دقت، هم در حضور تعداد محدودی از متغیرها یعنی یک دستگاه، یک شماره ساخت و یک کاربر طی یک دوره کوتاه زمانی (تکرارپذیری repeatability) و هم با متغیرهای متعدد طی یک دوره زمانی طولانی (همانندسازی reproducibility) انجام می‌شود. بررسی تغییرات ساخت-به-ساخت از موارد لازم است و در اروپا و آمریکا، تا زمانی که از عملکرد یک IVD مخاطره بالا اطمینان حاصل شود ناظران باید هر سری ساخت را آزمایش کنند و برای آن مجوز صادر کنند. معیار دستورکارهای پیش‌ارزیابی WHO مشابه هستند اما سختگیری کمتری دارند. با اجرای این برنامه، تا زمانی که یک IVD وارد بازار شود، ارزیابی‌های وسیع عملکردی انجام شده‌اند و نتایج آن برای بررسی توسط کاربران بالقوه در حوزه عمومی قرار می‌گیرند.

#### کیفیت آزمایش‌های کنونی برای کووید-۱۹

با وجود این، در وضعیت کنونی کووید-۱۹، جو کیفیت متفاوتی حاکم است. اخیراً، به منظور ممکن ساختن استفاده از کیت‌ها بدون نیاز به ارائه شواهد کامل از طرف سازنده که در شرایط معمولی لازم است، دولت‌ها به درستی برای الزامات نظارتی معافیت در نظر گرفته‌اند. بر اساس سند اروپایی 98/79/EC برای IVD، ابزارهای تشخیصی کووید-۱۹ در حوزه ضمیمه سوم هستند و سازنده باید شاخصه‌های عملکردی ابزار را مشخص کند و تطابق با ایمنی و الزامات عملکردی فهرست شده در این سند را اظهار کند. لازم نیست ارزیابان اروپایی هیچ بررسی عملکردی انجام دهند یا برای شماره ساخت‌ها مجوز صادر کنند. اروپا اخیراً در حال انتقال به IMDF است، اگرچه این انتقال هنوز کامل نشده است. هنوز نامشخص است که آیا کووید-۱۹ در دسته آزمایش‌های دارای بالاترین مخاطره قرار خواهد گرفت، و در نتیجه یک ارزیابی کامل شامل مجوز برای هر شماره ساخت برای آن الزامی خواهد شد. به احتمال زیاد، اروپا نیز همان راه آمریکا، استرالیا و WHO را خواهد رفت و تمهیدات استفاده اضطراری را مجاز خواهد کرد. در استرالیا، قانون ویژه‌ای گذرانده شد که IVDها را از موشکافی‌های معمول نظارتی معاف می‌کند. WHO دستورکار فهرست کاربرد اضطراری را برای روش NAT در کووید-۱۹ (اما نه سرولوژی) ارائه کرده است که شواهد محدودی را در رابطه با عملکرد طلب می‌کند. به همین شکل FDA آمریکا، کانادا، ژاپن، کره و سنگاپور نیز فهرست کاربرد اضطراری برای NAT و سرولوژی ارائه کرده‌اند بدون نیاز به ارائه شواهد کامل عملکردی. اروپا و استرالیا ارزیابی آزمایش‌های کووید-۱۹ را خارج از فرآیندهای معمول نظارتی به آزمایشگاه‌های سلامت عمومی واگذار کرده‌اند. این آزمایشگاه‌ها در خط مقدم انجام آزمایش‌های کووید-۱۹ قرار دارند، اما تجربه کمی در ارزیابی‌های رسمی کیت‌های آزمایش دارند و در حال حاضر در حال سر و کله زدن با حجم بالای نمونه‌هایی هستند که بر سرشان ریخته است. FIND (ژنو، سوئیس) در حال گردآوری نتایج ارزیابی‌های روش‌های NAT و سرولوژی کووید-۱۹ است.

هنگام طراحی برنامه‌های ارزشیابی برای آزمایش‌های کووید-۱۹ با برخی مشکلات فنی روبرو می‌شویم. برخلاف آزمایش‌های سرولوژی HIV، سیفیلیس و HBSAg، هیچ روش مرجع یا تاییدی شناخته شده‌ای برای کووید-۱۹ وجود ندارد. در راهبرد ارزیابی سرولوژی HIV از آزمایش‌های متعدد شامل آزمایش‌های غربالی و متعاقباً آزمایش‌های تکمیلی و/یا تاییدی مانند وسترن بلات استفاده می‌شود. به همین شکل، در راهبرد مورد استفاده برای سیفیلیس از آزمایش‌های متعدد آنتی تروپونمایی اختصاصی مانند EIAها، CHLIA و TPPA استفاده می‌شود. مثبت بودن HBSAg و HIV p24 را می‌توان با آزمایش خنثی‌سازی<sup>۶</sup> تایید کرد. در حال حاضر هیچ آزمایش مرجعی برای سرولوژی کووید-۱۹ وجود ندارد، البته NRL در حال کار بر روی یک وسترن بلات است. خنثی‌سازی ویروسی ممکن است مفید باشد. برای ارزیابی LOD یا LOQ برای NAT در کووید-۱۹، داشتن یک استاندارد بین‌المللی با بار ویروسی شناخته شده لازم است. با وجود این، تهیه چنین استانداردی زمان زیادی لازم دارد. در میان‌مدت، باید چندین پیل از رقت‌های سریال ویروسی تهیه و در دسترس قرار بگیرد و همه NATها با استفاده از سری‌های رقتی یکسان مقایسه شوند تا بتوان مقایسه LOD را انجام داد. بدون چنین سطحی از انضباط، درک ما از عملکرد کیت‌های آزمایش کووید-۱۹ محدود باقی خواهد ماند.

**مهم است دریابیم که در حال حاضر داده‌های کمی در ارتباط با کیت‌های آزمایش کووید-۱۹ وجود دارد.** در نوشته‌ای که به تازگی توسط دانشگاه ملی سنگاپور (NUS) منتشر شده است کیت‌های آزمایش که تا زمان تهیه آن نوشته در دسترس بوده است در ضمیمه‌ای فهرست شده است. متأسفانه، در مورد بیشتر کیت‌ها هیچ داده‌ای در باره عملکرد آزمایش وجود ندارد. در مورد آن‌هایی هم که وجود دارد، حساسیت و اختصاصیت قابل قبول نیست و اطمینان کمی را برمی‌انگیزاند. یکی از روش‌های موجود در مطالعه NUS که داده‌های آن ارائه شده است کیت آزمایش سریع IgM/IgG کووید-۱۹ ساخت BioMedomics / Jiangsu Medonics Medical است. با اشاره به این مورد فقط به عنوان یک نمونه، حساسیت اعلان شده ۸۸.۶٪ و اختصاصیت اعلان شده ۹۰.۶٪ است. اول این که بدون ارائه محدوده‌های اطمینان ۹۵٪، گزارش حساسیت و اختصاصیت زیر سوال است. اگر یک روش ۹ تا ۱۰ نمونه مثبت را به درستی شناسایی کند، حساسیت آن ۹۰٪ می‌شود با بازه اطمینان ۹۵٪ برابر با ۵۴.۱٪ تا ۹۹.۵٪، که معنای آن این است که حساسیت واقعی ممکن تا ۵۴.۱٪ پایین باشد. اگر ۱۰۰۰ نمونه مثبت استفاده شده بود و ۹۰۰ تا شناسایی شده بود، باز هم حساسیت همان ۹۰٪ می‌شد اما با بازه اطمینان ۹۵٪ برابر با ۸۷.۹٪ تا ۹۱.۷٪، که نشان دهنده اطمینان بسیار بیشتری به برآورد حساسیت است. در ارزیابی کیت یاد شده، ۳۹۷ نمونه مثبت استفاده شده است و ۳۵۱ نمونه شناسایی شده است، که به معنای حساسیت ۸۸.۶٪ است با بازه اطمینان ۹۵٪ برابر با ۸۴.۸٪ تا ۹۱.۳٪. به بیان دیگر، از هر ۱۰۰,۰۰۰ فرد مثبت واقعی که آزمایش شوند، ۱۱,۴۰۰ نفر به طور نادرست منفی گزارش خواهند شد. خطر استفاده از آزمایش‌های دارای عملکرد ضعیف کاملاً عیان است، هم از دیدگاه سلامتی و هم از دیدگاه اقتصادی.

**ما داریم با چشمان بسته پرواز می‌کنیم.** در زمان نوشتن این مطلب، بیش از یک میلیون نفر عفونت تایید شده کووید-۱۹ دارند، و ارقام واقعی بسیار بالاتر است. با وجود این، مشکل تهیه تعداد کافی از نمونه‌های با حجم مناسب برای اجرای مطالعات فراگیر همچنان باقی است. یک مشکل این است که وقتی آزمایش NAT افراد مثبت می‌شود، ایشان در ایزوله قرار می‌گیرند و تهیه نمونه مشکل می‌شود. کسانی که در خط مقدم قرار دارند از نیاز به نمونه‌های ارزشیابی آگاهی ندارند و نوع نمونه‌های لازم را نمی‌شناسند. بله، "ارزیابی‌های" بسیاری با استفاده از نمونه‌های در دسترس در حال انجام است. FIND در حال گردآوری و انباشتن این داده‌ها برای استفاده عمومی است. در حال حاضر، از سازندگان خواسته می‌شود که داده‌های مربوط به عملکرد روش‌هایشان را به دست آورند برای این که در آینده، زمانی که کووید-۱۹ دیگر شامل کاربرد اضطراری نبود، آن داده‌ها را برای اثبات ادعاهایشان ارائه کنند.

با وجود این، تا جایی که من خبر دارم، فرآیندی که به طور سامانمند و علمی ساختار بندی شده باشد برای ارزشیابی کیت‌های آزمایش با استفاده از پیل‌های نمونه که به خوبی ساختار بندی شده‌اند وجود ندارد. در حال حاضر، بدون احتساب آزمایش‌های خانگی، بیش از ۲۰۰ کیت آزمایش در دسترس است یا در حال آماده شدن است. آنچه که لازم است داشتن یک پیل نمونه مرتب شده است که بتوان در ارزشیابی شاخصه‌های عملکردی کیت‌های آزمایش کووید-۱۹ استفاده کرد. حجم این پیل‌ها باید کافی باشد طوری که بتوان تا حد ممکن کیت‌های آزمایش بیشتری را بررسی کرد. گردآوری نتایج حاصل از هر کیت آزمایش بر ارزش این پیل ارزیابی خواهد افزود. برنامه پیش‌ارزیابی WHO چنین پنی را برای سرولوژی HIV تهیه کرده است و NRL اخیراً در حال تهیه پنی برای سیفیلیس است. چنین فعالیتی نیازمند تلاشی هماهنگ شده و دانش در باره برنامه‌های ارزشیابی است.

<sup>6</sup> neutralization

NRL از همکاران بالقوه‌ای که می‌توانند در تهیه نمونه‌ها به شکل اخلاقی و غیر تجاری برای استفاده در تهیه یک پنل ارزشیابی کمک کنند استقبال می‌کند. به عنوان یک جامعه علمی، و برای اطلاع‌رسانی به دولت‌هایمان، نیاز به اطلاعات فراگیر و معتبر علمی در باره آزمایش کووید-۱۹ اضطراری و مهم است. ارزشیابی‌های باری به هر جهت و از سر ضرورت با استفاده از نمونه‌های در دسترس و بدون برنامه‌های علمی که به خوبی ساختار بندی شده باشند کافی نیست؛ و حتی ممکن است خطرناک و گمراه کننده باشند. برای حل این مشکل به یک رویکرد بین‌المللی هماهنگ نیاز داریم.

چنانچه سازمان شما تمایل دارد و می‌تواند در تهیه پنل‌های نمونه جهانی برای ارزیابی آزمایش‌های سرولوژی کمک کند، لطفاً به [wayne@nrlquality.org.au](mailto:wayne@nrlquality.org.au) ایمیل بفرستید.

---

## About the author



Wayne Dimech is Executive Manager, Scientific and Business Relation of the NRL, a World Health Organization (WHO) Collaborating Centre for Diagnostics and Laboratory Support for HIV and AIDS and Other Blood-borne Infections. Mr Dimech obtained a degree in medical laboratory science at Royal Melbourne Institute of Technology (RMIT) University in Melbourne, before undertaking a microbiology fellowship at the Australian Institute of Medical Scientists and completing an MBA at LaTrobe University in Melbourne. He is also a Fellow of the Faculty of Science (Research) of the Royal College of Pathologists Australasia. He has worked in private and public pathology laboratories predominantly in Microbiology Departments, where he specialised in infectious disease serology. Mr Dimech's research interests include the control and standardisation of assays that detect and monitor blood-borne and sexually transmitted infectious diseases. A particularly interest is the standardization of rubella testing and the monitoring of infectious disease assay variability. He was instrumental in the development of EDCNet, an

internet-based program for monitoring quality control test results, which is now used worldwide, and in the optimization of OASYS, software designed to manage the external quality assessment schemes. Mr Dimech is an advisor for numerous national and international working groups, including the Australian Hepatitis B Testing Strategy, Standards Australia and consultancies under the auspice of WHO, International Health Regulations, UNDP and the Global Fund. He has authored or co-authored about 50 articles in international peer-reviewed journals and contributed to three book chapters.