

شناسایی-آنتی ژن در تشخیص عفونت SARS-CoV-2 با استفاده از روش های سنجش ایمنی سریع



World Health
Organization

راهنمایی موقت

۱۱ سپتامبر ۲۰۲۰

زمینه

از ابتدای شروع پاندمی کووید-۱۹، آزمایشگاه ها از آزمایش های افزایش اسید نوکلئیک (روش تشخیص مولکولی)، مانند سنجش های واکنش زنجیره ای پلیمراز-رونویسی معکوس (rRT-PCR) برای تشخیص SARS-CoV-2، ویروس عامل بیماری استفاده نموده اند. در بسیاری از کشورها، دسترسی به این شکل از آزمایش چالش برانگیز بوده است. جستجو برای انجام آزمایش های تشخیصی قابل اعتماد، اما ارزان تر و سریع تر که آنتی ژن های خاص عفونت با SARS-CoV-2 را تشخیص دهد، در حال انجام است. آزمایش های شناسایی آنتی ژن جهت تشخیص مستقیم پروتئین های SARS-CoV-2 که به واسطه تکثیر ویروس در ترشحات تنفسی است، به عنوان تست های مبتنی بر پایه آزمایشگاهی و هم جهت استفاده بر بالین بیمار، تولید شده است و به اصطلاح آزمایش های تشخیص سریع یا RDTs نامیده می شوند. چشم انداز توسعه روش های تشخیصی بسیار پویاست و نزدیک به صد شرکت، در حال توسعه یا ساخت آزمایش های سریع برای تشخیص آنتی ژن SARS-CoV-2 هستند (۱).

این سند توصیه هایی را در مورد نقش بالقوه آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن (Ag-RDT) در شناسایی کووید-۱۹ و نیاز به انتخاب دقیق آزمایش را ارائه می کند. اطلاعات مربوط به آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن در این سند راهنمایی هایی را که در خلاصه علمی با عنوان توصیه های سازمان جهانی بهداشت (WHO) در مورد استفاده از روش های تشخیص ایمنی بر بالین برای کووید-۱۹، منتشر شده در ۸ اپریل ۲۰۲۰ آورده شده، به روز رسانی می کند. راهنمای استفاده از کیت تشخیص سریع آنتی ژن با در دسترس قرار دادن شواهد جدید به طور منظم به روز می شود.

بیشتر کیت های تشخیص سریع آنتی ژن جهت کووید-۱۹، از روش سنجش ایمنی ساندویچ با استفاده از یک فرمت ساده آزمایش جریان جانبی استفاده می کنند که معمولاً برای آزمایش HIV، مالاریا و آنفلوانزا نیز استفاده می شود. آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن معمولاً از یک کاست پلاستیکی با چاهک های نمونه و بافر، یک نوار ماتریس نیتروسولوز، یک خط آزمایش با آنتی بادی متصل شده و اختصاصی برای کمپلکس آنتی ژن-آنتی بادی هدف و یک خط کنترل با آنتی بادی اختصاصی متصل برای آنتی بادی-کونژوگه، تشکیل شده اند. در مورد آزمایش های تشخیص سریع SARS-CoV-2، آنالیت هدف اغلب پروتئین نوکلئوکپسید

ویروس است که به دلیل فراوانی نسبی آن، ترجیح داده می شود. به طور معمول، تمام موادی که برای انجام آزمایش مورد نیاز هستند، از جمله مواد جمع آوری نمونه، به استثنای تایمر در کیت تجاری ارائه می شوند.

پس از جمع آوری نمونه تنفسی و استفاده از آن بر روی نوار آزمایش، نتایج توسط اپراتور طی ۱۰ تا ۳۰ دقیقه با یا بدون کمک دستگاه خوانشگر، قرائت می شوند. استفاده از یک خوانشگر، تفسیر نتایج آزمون را استاندارد کرده و مغایرت های تفسیر آزمایش، توسط اپراتورهای مختلف را کاهش می دهد، اما به تجهیزات جانبی نیاز دارد. در حال حاضر اکثر آزمایش های طراحی و تولید شده به نمونه های سواب بینی یا نازوفارنکس نیاز دارند، اما شرکت ها در حال انجام مطالعاتی برای ارزیابی عملکرد آزمایش های خود، با استفاده از انواع نمونه های جایگزین مانند بزاق، مایع دهانی و سیستم های جمع آوری نمونه، به منظور استفاده ساده و ایمن و کارآمد آن ها هستند. به طور کلی، سهولت استفاده و زمان چرخه کاری سریع آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن، بطور بالقوه، دسترسی گسترده برای انجام آزمایش و کاهش تاخیر در تشخیص جهت بیماران با علائم اولیه را، به واسطه انجام آزمایش ها به صورت غیرمتمرکز فراهم می کند. خطر سادگی انجام آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن، کاهش حساسیت آن نسبت به روش تشخیص مولکولی است. تعداد کمی از کیت های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 تحت بررسی دقیق مقررات قرار گرفته اند. فقط چهار کیت مجوز استفاده اضطراری (EUA) سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) را دریافت کرده اند و دو کیت دیگر توسط آژانس دارویی و تجهیزات پزشکی ژاپن تایید شده است. فقط سه شرکت اسناد خود را در رابطه با روش فهرست استفاده اضطراری (EUA) برای سازمان جهانی بهداشت ارسال کرده اند (۲،۳)

در حال حاضر داده های مربوط به حساسیت و ویژگی کیت تشخیص سریع آنتی ژن های موجود برای SARS-CoV-2 از مطالعات مختلف که دارای طراحی و برندهای متفاوتی هستند، به دست آمده است. این مطالعات نشان داده اند که حساسیت در مقایسه با روش تشخیص مولکولی در نمونه های دستگاه تنفسی فوقانی (سواب بینی یا حلق) بسیار متغیر به نظر می رسد، از صفر تا ۹۴٪ (۱۳-۴) اما گزارش شده است که ویژگی آزمایش همواره بالا است (>۹۷٪). گرچه شواهد بیشتری در مورد عملکرد واقعی آن در سطح جهانی و جنبه های کاربردی آن مورد نیاز است، کیت های تشخیص سریع آنتی ژن به احتمال زیاد در بیمارانی که بار ویروسی زیادی دارند (مقادیر $Ct \leq 25$ یا 10^6 کپی نسخه ویروس ژنومیک در میلی لیتر) که معمولاً در بیماران، قبل از شروع علائم (پره سیمتوماتیک ۱-۳ روز قبل از شروع علائم) و در فاز اولیه علائم بیماری (در ۵-۷ روز اول بیماری) عملکرد خوبی دارد. (۱۴،۱۵،۲۱). این وسیله فرصت خوبی را برای تشخیص زود هنگام و قطع انتقال به واسطه جداسازی هدفمند گروه های مبتلای مسری و تماس نزدیک آن ها فراهم می کند (۱۶). بیمارانی که بیش از ۵-۷ روز پس از شروع علائم مراجعه می کنند، بار ویروسی کمتری داشته و احتمال نتایج منفی کاذب با آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن در آن ها بیشتر است.

با وجود محدودیت های عملکردی مورد انتظار، کیت های تشخیص سریع آنتی ژن اگر به درستی اجرا و تفسیر شوند، می توانند نقش مهمی در هدایت و مدیریت بیماری، تصمیم سازی های بهداشت عمومی و مراقبت کووید-۱۹ داشته باشد. در سطح حداقلی، آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن، باید موارد قابل توجهی بیشتر از مواردی را که از دست می دهند، به درستی شناسایی کرده (حساسیت ۸۰% >) و ویژگی بسیار بالایی داشته باشند (۹۷٪-۱۰۰٪). بر اساس این پارامترهای عملکردی، این راهنمای موقت چندین نقش بالقوه را برای آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن پیشنهاد کرده و توصیه های کلی برای انتخاب آزمایش ها و ملاحظات کلیدی را برای استقرار آن ها ارائه می کند.

توصیه های کلی برای استفاده از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2

۱- آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 که حداقل نیازهای عملکردی (>۸۰٪ حساسیت و >۹۷٪ ویژگی) در مقایسه با یک روش مرجع روش تشخیص مولکولی را دارند، می توانند برای تشخیص عفونت SARS-CoV-2 در طیف وسیعی از مکان ها، که در آن ها روش تشخیص مولکولی در دسترس نیست یا در مواردی که زمان چرخه کاری طولانی مانع از کاربرد بالینی آن ها می شود، مورد استفاده قرار گیرند.

برای بهینه سازی عملکرد، آزمایش با آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن، باید توسط افراد آموزش دیده و کاملاً مطابق با دستورالعمل های سازنده و در ۷-۵ روز اول پس از شروع علائم انجام شود.

۲- سناریوهای مناسب برای استفاده از کووید-۱۹ آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن S شامل موارد زیر است:

(i) در واکنش به طغیان های مشکوک به کووید-۱۹ در مناطق دور دست، موسسات و جوامع نیمه بسته که روش تشخیص مولکولی سریعاً در دسترس نیست؛ نتایج مثبت کیت تشخیص سریع آنتی ژن از چندین فرد مشکوک، به احتمال زیاد طغیان کووید-۱۹ را نشان داده و امکان اجرای زودهنگام اقدامات کنترلی بیماری را فراهم می کند. در صورت امکان، تمام نمونه هایی که نتایج مثبت آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن (یا حداقل یک زیر مجموعه) را دارند باید برای آزمایش تاییدی NAAT به آزمایشگاه هایی با قابلیت انجام روش تشخیص مولکولی منتقل شوند.

(ii) برای پشتیبانی از کشف و شناسایی طغیان (به عنوان مثال در گروه های بسته یا نیمه بسته از جمله مدارس، خانه های مراقبت، کشتی های تفریحی، زندان ها، محل های کار و خوابگاه ها و غیره) در طغیان کووید-۱۹ در مواردی که توسط روش تشخیص مولکولی تایید شده باشند، از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن، می توان برای غربالگری افراد در معرض خطر و جداسازی سریع موارد مثبت (و شروع سایر اقدامات

ردیابی تماس) و اولویت بندی نمونه برداری برای انجام آزمایش به روش تشخیص مولکولی از افرادی که آزمایش تشخیص سریع آن ها منفی شده است، استفاده نمود.

(iii) جهت پایش روند بروز (incidence) بیماری در جوامع و به ویژه در میان کارکنان مشاغل ویژه و کارکنان بهداشتی درمانی، در هنگام طغیان بیماری، یا در مناطقی که سرایت پذیری بیماری در سطح جامعه وسیع باشد، به شرطی که ارزش پیش بینی کننده مثبت PPV و ارزش بینی کننده منفی NPV نتیجه یک آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن کووید-۱۹، برای کنترل موثر عفونت کافی باشد، مفید هستند.

(iv) در مواردی که سرایت پذیری گسترده در جامعه وجود دارد، برای تشخیص زود هنگام و جدا کردن موارد مثبت در مراکز بهداشتی، مراکز / مکان های انجام دهنده آزمایش کووید-۱۹، خانه های نگهداری سالمندان، زندان ها، مدارس، کارکنان خط مقدم و مراقبت های بهداشتی و ردیابی تماس می توان از کیت های تشخیص سریع استفاده کرد. توجه داشته باشید که مدیریت ایمن بیمارانی که نمونه های آن ها با آزمایش تشخیص سریع، منفی شده است، به عملکرد آزمایش تشخیص سریع و شیوع کووید-۱۹ در جامعه بستگی دارد (به پیوست ۱ مراجعه کنید). نتیجه منفی یک آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن نمی تواند بیماری فعال، به ویژه در بیماران علامت دار کووید-۱۹ را کاملا رد نماید، بنابراین، در صورت امکان باید آزمایش تکرار یا ترجیحا آزمایش تاییدی با روش تشخیص مولکولی انجام شود (شکل ۱).

(v) آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن ممکن است در موارد بدون علامت با وجودی که بطور خاص برای این منظور مجاز دانسته نشده است، استفاده گردد. زیرا نشان داده شده که ممکن است موارد بدون علامت، بار ویروسی مشابه موارد علامت دار داشته باشند (۱۷)، با این وجود، در آن شرایط هم، نباید با یک نتیجه منفی آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن، افرادی را از شرایط قرنطینه خارج کرد.

۳- برای معرفی اولیه از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن در کاربردهای بالینی، کشورها باید برخی اقدامات را در نظر بگیرند. از جمله این که آزمایش تاییدی به روش تشخیص مولکولی در دسترس باشد تا کارکنان بتوانند به آزمایش ها اطمینان پیدا کرده، عملکرد آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن انتخاب شده را تایید کرده و مشکلات پیاده سازی و انجام آزمایش را برطرف کنند. در جایی که از روش تشخیص مولکولی برای تایید نتایج در بیمارانی که با استفاده از کیت تشخیص سریع آنتی ژن، غربال می شوند، استفاده می شود، نمونه های دو آزمایش باید تقریبا در یک زمان یا حداکثر در مدت زمان کمتر از ۲ روز، جمع آوری شود.

۴- در شرایطی که آزمایش تاییدی با روش تشخیص مولکولی امکان پذیر نیست، هر گونه نشانه نادرست بودن نتایج، باید شکی را در مورد اعتبار آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن ایجاد کند. به عنوان مثال می توان به

بیمارانی اشاره کرد که آزمایش آن ها مثبت شده، اما علائم بالینی آن ها با کووید-۱۹ مطابقت ندارد یا بیمارانی که با یک آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن، مثبت شناسایی شده اند در حالی که در یک منطقه با شیوع کم قرار دارند. (در جایی که ارزش پیش بینی کننده یک آزمایش مثبت (PPV)، کم و خطر مثبت کاذب بالاست) سایر علائم هشدار دهنده ممکن است شامل بیمارانی باشد که آزمایش منفی دارند اما دارای علائم کلاسیک بیماری هستند، با یک مورد بیمار در تماس نزدیک بوده اند، یا در یک مکان با شیوع بالا آزمایش شده اند. در چنین شرایطی، باید به تکرار آزمایش توجه شود، خصوصاً اگر عدم قطعیتی درباره نتایج چشمی (باند های ضعیف) یا کافی بودن نمونه برداری نیز وجود داشته باشد.

۵- استفاده از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن در مراکز یا جمعیت های که انتظار می رود در آنجا شیوع بیماری پایین باشد (به عنوان مثال غربالگری در نقاط ورودی کشور، اهدای خون و جراحی الکتیو) توصیه نمی شود، خصوصاً در مواردی که آزمایش های تاییدی به روش تشخیص مولکولی به سهولت در دسترس نیست. چنین استفاده ای تا زمانی که اطلاعات بیشتری از مطالعات با کیفیت بالا که تایید کننده ویژگی بالای آزمایش (۹۹٪) از یک یا چند کیت تجاری آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن به دست نیامده باشد، امکان پذیر نخواهد بود.

انتخاب آزمایش ها جهت خرید و انجام آزمایش:

با توجه به این که در حال حاضر تعداد محدودی از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 به صورت تجاری موجود است، انتظار می رود به زودی انواع مختلفی از محصولات از نظر کیفیت، نحوه انجام وارد بازار شوند. همانطور که در مقدمه گفته شد در اغلب SARS-CoV-2 آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن تجاری از یک جریان همرفتی جانبی با رنگ طلای کلونیدی و یا سایر رنگ های قابل رویت، استفاده شده است. در چند سیستم دیگر مثل موارد US FDA تحت نظر EUA از اندیکاتورهای دیگری که حساسیت را بیشتر کرده استفاده شده است، اما در این کیت ها به دستگاه خاصی جهت خوانش و پردازش نتایج نیاز می باشد.

برای انتخاب آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن عوامل مختلفی دخیل می باشند، از جمله می توان به موارد زیر اشاره داشت:

۱- کیفیت داده هایی که جهت تصدیق تست به کار گرفته شده، اول از همه منبع داده ها باید مد نظر باشد (مستقل هستند یا تحت حمایت مالی شرکت ها)، استانداردهای مرجع، نوع نمونه، فاصله لازم بین زمان بروز علائم تا زمان نمونه گیری، تعداد افراد مورد نیاز و نحوه انتخاب آن ها. از آنجایی که میزان ویروس در نمونه مهم ترین عامل حساسیت تست هاست، انتخاب بیمار و محل مورد آزمایش از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. مطالعات کلینیکی آینده نگر نسبت به مطالعات گذشته نگر ارجحیت دارند. اگر مطالعات به

خوبی و با دقت انجام گردد، داده های مطالعات مستقل، نسبت به داده های مطالعات تحت حمایت مالی شرکت ها با ارزش تر می باشند.

۲- نحوه گزارش

قبل از خرید و انجام تست آزمایش تشخیص سریع می بایست داده ها به طور کامل بررسی گردند. در شرایطی که شیوع SARS-CoV-2 فعال نسبتا کم است، جهت جلوگیری از مثبت کاذب، اختصاصیت بالا (حداقل بیش از ۹۷ درصد و به طور ایده آل ۹۹ درصد) مد نظر می باشد. حساسیت به شرایط بیماران مورد مطالعه (شدت بیماری، مدت زمان گذشته از شروع بیماری و ...) و همین طور کیفیت نمونه، بستگی دارد، حداقل حساسیت باید ۸۰ درصد باشد. روش ارزیابی مناسب، بررسی حساسیت تست در یک بیمار با تعداد سیکل آستانه ای کم (CT=۲۸-۳۰) در rRT-PCR می باشد، چون وقتی CT در این محدوده باشد انتظار داریم ویروس زیادی در نمونه های تنفسی دیده شود. (حدود ۹۰ درصد، طبق برخی نوشته های منتشر شده و یا منتشر نشده) (۴،۱۱). باید توجه داشت که میزان CT در روش های مختلف rRT-PCR متفاوت بوده و اکیدا با مقادیر کمی ارتباط ندارد.

۳- کیفیت ساخت و شرایط نظارتی

کیت ها باید از شرکت هایی خریداری شوند که سیستم مدیریت کیفیت مثل ISO13385 را داشته و حداقل اجازه نظارت منطقه ای یا اجازه فروش از کشور تولید کننده را داشته باشند. آزمایش های تشخیص سریع هم مثل تمام آزمایش های تشخیصی آزمایشگاهی که برای تشخیص بالینی استفاده می شوند، باید شرایط سخت و شفاف نظارتی را گذرانده باشند. در زمان خرید می بایست به مجوز یا تاییدیه سازمان نظارتی و یا مجوز مصرف اورژانس که از لیست WHO انتخاب شده اند توجه نمود.

۴- ظرفیت ساخت و سایر مسائل کیفی

بسیاری از شرکت های تازه کار بدون سابقه مفید در ساخت، فروش و پشتیبانی کیت های تشخیصی وارد بازار آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 شده اند. بنابراین باید به سایر تولیدات شرکت، به خصوص کیت های دیگری که بر اساس جریان جانبی (lateral flow) ساخته شده اند دقت شود. علاوه بر این، باید به مجوز نظارتی که جهت تولیدات غیر اورژانس خود دارند، ظرفیت تولید و توانایی ادامه کار شرکت نیز دقت شود چون بسیاری از شرکت ها توانایی تولید و ارائه کیت هایی با کیفیت بالا اما تعداد کم دارند، بنابراین در زمان نیاز جهانی، توانایی تولید کافی و در سطح زیاد را ندارند.

۵- توزیع و کمک های فنی

باید به تولیدکنندگان توضیح داد که این محصولات می بایست در کشورهایی با درآمد پایین یا متوسط قابل استفاده باشند. این موضوع در مورد تست هایی که نیاز به لوازم جانبی خاص مثل دستگاه های خوانشگر مخصوص دارند، بیشتر نمایان می گردد.

۶- حمل و نقل، شرایط نگهداری و پایداری

در مورد آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن پایداری و تحمل تغییرات دما بسیار اهمیت دارد. حداقل پایداری ۱۸-۱۲ ماه و دمای ۳۰ (بهتر است ۴۰ درجه را تحمل نماید) مد نظر می باشد. نیاز به زنجیره سرد در زمان حمل و نقل و یا انبارش باعث افزایش نرخ و نیز مشکلات در توزیع کیت می شود.

۷- شرایط نگهداری نمونه

کیت های آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 در نوع نمونه، تعداد مراحل کار، زمان لازم، وسایل لازم، تفسیر نتایج که منجر به آموزش خاص می گردد، متفاوت می باشند. به همین دلیل داشتن یک روش ساده بسیار حائز اهمیت است.

۸- محتویات کیت

کیت های استاندارد الزاما همه وسایل مورد نیاز برای انجام آزمایش را ندارند و باید قبل از خرید، از کنترل کیفی آن اطمینان حاصل نمود. تعدادی از کیت های تجاری موجود آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 نیاز به خوانشگر اختصاصی دارند.

۹- قیمت آزمایش

قیمت آزمایش بستگی به نرخ و حجم خرید دارد و در کل باید از PCR ارزانتر باشد، نرخ حمل و نقل، مالیات واردات، نحوه و هزینه انبارش، آموزش مصرف کنندگان و کنترل کیفی بعد از خرید باید در محاسبات در نظر گرفته شود.

۱۰- در دسترس بودن، تکمیل بودن و دقیق بودن دستورات استفاده

این موارد باید شفاف و واضح باشند به طوری که برای افرادی که متخصص آزمایشگاه نیستند قابل استفاده و راحت باشند.

ملاحظات اجرایی

۱- هر چند که انجام آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن، به نظر آسان تر از روش تشخیص مولکولی می باشد، اما باید تمام دستورات روش های اجرایی تولید کنندگان با دقت فراوان انجام شود و به مستندات، مراحل وابسته به زمان، مراحل وابسته به حجم، شرایط نگهداری و انبارش، شرایط پایداری و وسایل مورد نظر دقت زیادی شود.

تمام کاربرهای آزمایش فوق می بایست جهت نمونه گیری، دستورات ایمنی، نحوه اجرای تست، تفسیر نتایج و ارائه جواب و همین طور مدیریت پسماندها، آموزش لازم را دیده باشند، قطعاً رعایت کنترل کیفی نیز الزامیست.

۲- بررسی بازار جهت پیدا کردن نواقص شرکت های تولیدی، برای کارخانه از اهمیت بالایی برخوردار است، سیستم سلامت باید از مکانیزم های پیگیری و ارزیابی شفاف مشکلات تست های تشخیصی کووید-۱۹ با خبر باشد.

۳- جهت بررسی سیستم نیاز به اطلاعات دیگری نیز هست (مثل نحوه استفاده از وسایل، کالیبراسیون، سرویس به موقع و شرایط انجام) و همین طور داشتن وسایل زیربنایی اصلی مثل منبع برق قابل اعتماد.

۴- یکی از مهم ترین فاکتورهای اساسی در کیت های آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن، نحوه جمع آوری نمونه می باشد. دستورات می بایست با دقت اجرا شده و افراد نمونه بردار بطور کامل آموزش دیده باشند.

۵- هر یک از تست ها روش های خاص خود را جهت آماده سازی نمونه های جمع آوری شده دارد، دستورات باید از قبل بررسی شده و نباید هیچ ماده جایگزینی را استفاده نمود (برای مثال نمی توان از آب یا سایر مایعات به جای بافر یا محلول رقیق کننده استفاده نمود).

۶- وسایل ایمنی کارکنان باید در محل موجود باشد، برای مثال وسایل حفاظت فردی، ظروف امحای مناسب و تهویه مناسب بسیار ضروری هستند.

روش ها

این طرح کلی سند راهنمای موقت آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2، بر اساس حداقل شاخص های اجرایی طراحی شده است. حداقل موارد لازم اجرایی جهت آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن بر اساس سند رسمی و محصول نهایی (TTPs) با ارجحیت SARS-CoV-2 نوشته شده است. (۲۰)

به آن ها اعلام شده که این یک طرح موقت برای تشخیص انتشار و سرایت پذیری ویروس بوده و در مورد فواید پیش بینی هرچه سریع تر آن اطلاع رسانی شد. داده های pubMed و medRxiv بر روی هر دو مقالات تحقیقاتی منتشر شده و مقالات قبل از چاپ نشانه از دقت نظر بر تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 دارد و صحت یک تست تشخیصی معین شده (۲۱) علاوه بر آن گزارش های مستقل منتشر نشده روی عملکرد دو آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2، به طور محرمانه ای به سازمان بهداشت جهانی ارائه شد.

راهنمای موقت توسط اعضای آزمایشگاه مرجع کووید-۱۹ سازمان بهداشت جهانی و اعضای تشخیص محصول نهایی کووید-۱۹ سازمان بهداشت جهانی و سایر متخصصین مورد بررسی قرار گرفت.

ما نواقص موجود را بر اساس شواهد تشخیص می دهیم. این ها شامل مقادیر کم نمونه، نمونه گیری اشتباه، بر حسب انتظار از وجود یا عدم وجود عفونت SARS-CoV-2 در موارد مورد مطالعه می باشد.

علاوه بر این ها فقدان اطلاعات از موارد بدون علامت، استفاده از آزمایشات خارج از دستورالعمل تولیدکنندگان و انجام تست در آزمایشگاه ها به جای تست بر بالین بیمار باعث می شود در تعمیم نظریه مشکل داشته باشیم. با این وجود نتیجه گیری شد که برخی از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن حداقل نیازهای اولیه تشخیص زودرس بیماری را طی ۷-۵ روز اول (زمانی که ویروس بیشترین احتمال آلوده کنندگی را دارد) ممکن می سازد.

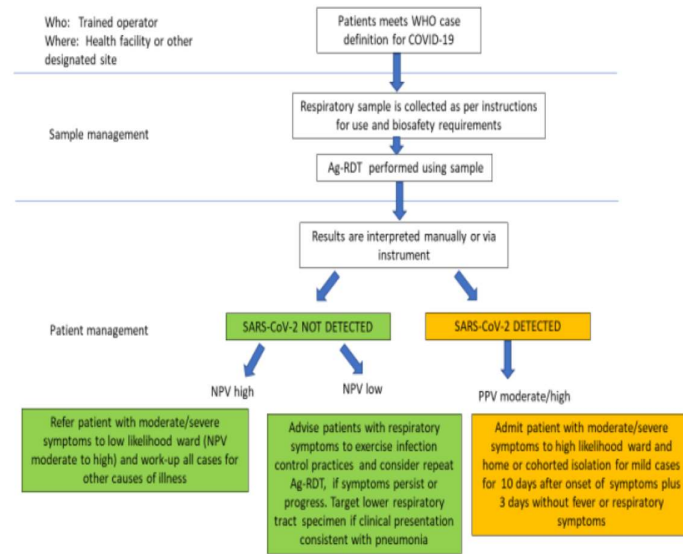
عملکرد آزمون

عملکرد یک آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن با حساسیت و ویژگی آزمایش جهت تشخیص عفونت SARS-CoV-2 در مقایسه با استاندارد مرجع، روش تشخیص مولکولی (به طور کلی rRT-PCR) تعیین می شود.

حساسیت درصد موارد مثبت توسط یک استاندارد مرجع روش تشخیص مولکولی است که توسط کیت تشخیص سریع آنتی ژن تحت ارزیابی مثبت تشخیص داده می شود.

ویژگی درصد موارد منفی توسط یک استاندارد مرجع روش تشخیص مولکولی است که توسط کیت تشخیص سریع آنتی ژن تحت ارزیابی منفی تشخیص داده می شود. شیوع بیماری در جامعه مورد آزمایش به شدت بر ارزش پیش بینی کننده نتایج مثبت یا منفی تأثیر می گذارد (به پیوست ۱ مراجعه کنید). بنابراین، ارزش بالینی نتیجه آزمایش مثبت یا منفی به این بستگی دارد که وقتی در زمینه شیوع محلی تفسیر می شود، بر اساس نتیجه آزمایش چه اقداماتی انجام می گردد.

شکل ۱. نمودار نشان دهنده استفاده بالقوه از RTD های مبتنی بر آنتی ژن ۰ که حداقل معیارهای عملکرد را دارند) در مکان های با سرایت پذیری گسترده در جامعه و مناطقی که ظرفیت انجام روش تشخیص مولکولی وجود ندارد



NPV- negative predictive value; PPV – positive predictive value

به طور کلی، هر چه شیوع عفونت SARS-CoV-2 در جمعیت مورد آزمایش بیشتر باشد، احتمال ابتلا به کووید-۱۹ در شخصی که آزمایش مثبت دارد، بیشتر است. هر چه شیوع در جامعه کمتر باشد، احتمال بیشتری وجود دارد که بر اساس نتیجه منفی آزمایش، بیمار این بیماری را نداشته باشد. به پیوست ۱ مراجعه کنید. به عنوان مثال، وقتی شیوع عفونت فعال SARS-CoV-2 در یک جامعه ۱٪ باشد، حتی آزمایشی که ۹۹٪ ویژگی داشته باشد، ارزش پیش بینی کننده مثبت ضعیفی خواهد داشت. زیرا نیمی از تمام نتایج مثبت، مثبت خواهند بود.

نقش های شناسایی آنتی ژن آزمایش تشخیص سریع برای مدیریت مورد بیماری و نظارت بر کووید-۱۹

استفاده از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن باید در کشورها یا مناطقی که انتقال گسترده در جامعه را تجربه می کنند، آزمایش های مد نظر قرار گیرد، زیرا در این حالت ممکن است سیستم بهداشتی بیش از حد تحت فشار قرار گرفته و آزمایش همه یا موارد مشکوک توسط روش تشخیص مولکولی امکان پذیر نباشد. اما همانند تمام آزمایشات تشخیصی، به ویژه آزمایشاتی که دارای حساسیت و / یا ویژگی پایین تر از حد معمول هستند، برای تفسیر و عمل بر روی نتایج آزمایش تشخیص سریع، باید شیوع بیماری (مطابق با استاندارد مرجع) براساس نظارت تخمین زده شود، زیرا این ها مقادیر ارزش پیش بینی کننده مثبت و منفی (به ترتیب PPV و NPV) را برای آزمایش تشخیص سریع آن ها تعیین می کنند (ضمیمه ۱). فرآیند پیشنهادی برای استفاده از آزمایش های تشخیص سریع آنتی ژن جهت مدیریت مورد کووید-۱۹ در صورت انتقال گسترده جامعه، در شکل ۱ نشان داده شده است. در چنین شرایطی، احتمال پیش از آزمون آزمایش بیماری کووید-۱۹ (احتمال ابتلای بیمار به COVID-19 قبل از مشخص شدن نتایج آن ها، بر اساس فاکتورهای اپیدمیولوژیک و بالینی) نسبتاً زیاد است و نتایج آزمایش مثبت از ارزش پیش بینی کننده بالایی برخوردار است. به همین ترتیب، در مناطقی که انتقال در جامعه وجود دارد، ممکن است ارزش پیش بینی کننده نتیجه منفی آزمایش تشخیص سریع کم باشد، حتی در صورتی که شاخص های اپیدمیولوژیک یا بالینی قوی در مورد وجود بیماری یا در معرض بیماری کووید-۱۹ قرار گرفتن وجود داشته باشد.

جدول ۱. محل هایی که آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2، بر اساس اطلاعات موجود نباید مورد استفاده قرار گیرد

توضیح	از SARS-CoV-2 کیت تشخیص سریع آنتی ژن استفاده نکنید:
احتمال پیش از آزمون (احتمال، قبل از آزمایش، که بیمار بر اساس اپیدمیولوژی، تماس با مورد، یافته های بالینی مبتلا به بیماری باشد) کم است.	در افراد بدون علائم مگر این که فرد در تماس با یک مورد تایید شده باشد
کیت تشخیص سریع آنتی ژن برای اهداف مراقبت معمول یا مدیریت موردی در محل توصیه نمی شود. نتایج آزمایش مثبت احتمالاً مثبت کاذب خواهد بود. در این شرایط آزمایش مولکولی ترجیح داده می شود.	جایی که موارد بیماری صفر یا فقط موارد پراکنده وجود دارد
برای محافظت از کارکنان بهداشتی، جمع آوری نمونه تنفسی برای هر آزمایش از بیمارانی که مشکوک به کووید-۱۹ هستند، مستلزم این است که اپراتورها از دستکش، روپوش، ماسک و محافظ صورت یا عینک استفاده کنند (۱۹،۲۲،۲۳).	در جایی که اقدامات ایمنی زیستی و پیشگیری و کنترل عفونت مناسب (IPC) وجود ندارد
اگر به دلیل ناشناخته یا پایین بودن PPV و / یا NPV، با بیماران آزمایش مثبت و منفی یکسان رفتار شود، آزمایش هیچ فایده ای ندارد.	مدیریت بیمار بر اساس نتیجه آزمایش تغییر نمی کند
شیوع کووید-۱۹ در بین مسافران بسیار متغیر است و بنابراین تعیین نتایج PPV و NPV امکان پذیر نیست. آزمایش های مثبت و منفی، برای افزایش PPV و NPV برای تصمیم گیری نیاز به آزمایش تأییدی دارند.	برای غربالگری فرودگاه یا مرز در مبادی ورودی
یک نتیجه مثبت آزمایش تشخیص سریع لزوماً با وجود ویرمی ارتباط ندارد. اهداکنندگان خون بدون علامت، به عنوان مورد مشکوک تعریف نمی شوند (۲۴).	در غربالگری قبل از اهدای خون

فاکتورهایی که کارایی آزمایش را تحت تاثیر قرار می دهند

بر اساس آنچه که پیش تر گفته شد، فاکتورهای زیادی وجود دارد که ممکن است کارایی آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن را تحت تاثیر قرار دهند. پیامد این یافته ها در حوزه های بالینی ممکن است متغیر باشد. موارد زیر باید در نظر گرفته شود:

- فاکتورهای مربوط به بیمار مانند زمان شروع بیماری و وضعیت ایمنی بدن
- نوع نمونه (دستگاه تنفسی فوقانی یا تحتانی)، کیفیت و فرآوری نمونه شامل شرایط نگهداری و رقت نمونه در محیط منتقل کننده ویروس
- فاکتورهای مربوط به ویروس از جمله غلظت و مدت زمان ریختن آنتی ژن ویروس و تغییرات ساختاری در آنتی ژن هدف، واکنش متقاطع با ویروس های دیگر
- پروتئین ویژه هدف، برخی از آنتی ژن ها با غلظت بالاتری نسبت به سایر آنتی ژن ها تولید می شوند مانند پروتئین های نوکلئوکپسید در مقابل پروتئین های شاخک

طراحی محصول یا مسائل مربوط به کیفیت از جمله:

- مقدار آنتی بادی ناکافی یا میل کم آن ها برای آنتی ژن (های) هدف
- بسته بندی ضعیف و قرار گرفتن در معرض گرما و رطوبت در هنگام حمل و نقل و یا ذخیره سازی نامناسب، که می تواند آنتی بادی های موجود در آزمایش را تخریب کند.
- دستورالعمل های نامشخص یا نادرست که می تواند عملکرد آزمون را تحت تأثیر قرار دهد.
- آموزش ناکافی یا عدم شایستگی فرد انجام دهنده آزمایش، که ممکن است منجر به خطا در آماده سازی کیت تشخیص سریع شناسایی کننده آنتی ژن، انجام آزمایش یا تفسیر نتیجه، با نتیجه گیری اشتباه شود.

به روز رسانی های آینده و توصیه های خاص محصول

WHO در حال کار و ارتباط نزدیک با گروه هایی است که عملکرد و ویژگی های عملیاتی شناسایی شده آزمایش تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 تجاری را ارزیابی می کنند تا شواهد را به طور سیستماتیک جمع آوری و به روز رسانی ها را هماهنگ کند. در حال حاضر، شواهد کافی در مورد عملکرد و استفاده عملیاتی برای توصیه محصولات خاص تجاری وجود ندارد.

ترجمه و ویرایش:

دکتر شهروز همتی، دکترای علوم آزمایشگاهی

دکتر نرگس سلاجقه، دکترای علوم آزمایشگاهی

دکتر غلامرضا حمزه لو، دکترای علوم آزمایشگاهی

انجمن دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

بهمن ماه سال ۱۳۹۹

References

- 1.Foundation for Innovative New Diagnostics.SARS-CoV 2 Diagnostic Pipeline 2020[Availablefrom: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>].
- 2.U.S.Food & Drug Administration.In VitroDiagnostics EUAs2020[Availablefrom:<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas>].
- 3.Agency PaMD.PMDA’s Effortsto Combat COVID-192020[Availablefrom: <https://www.pmda.go.jp/english/about-pmda/0002.html>].
- 4.Portel, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita JM, Araos R, et al. Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis.* 2020; S1201-9712(20)30405-7.
- 5.Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv.* 2020:2020.03.07.20032524.
- 6.Lambert-Niclot S, Cuffel A, LePape S, Vauloup-Fellous C, Morand-Joubert L, Roque-Afonso AM, et al. Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of SARS-CoV-2 Antigen in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol.* 2020; 58(8).
- 7.Mertens P, De Vos N, Martiny D, Jassoy C, Mirazimi A, Cuypers L, et al. Development and Potential Usefulness of the COVID-19 AgRespi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context. *Front Med (Lausanne).* 2020; 7:225.
- 8.Blairon L, Mokrane S, Wilmet A, Dessilly G, Kabamba-Mukadi B, Beukinga I, et al. Large-scale, molecular and serological SARS-CoV-2 screening of health care workers in a 4-site public hospital in Belgium after COVID-19 outbreak. *J Infect.* 2020; S0163-4453(20)30514-4.
- 9.Mak GC, Cheng PK, Lau SS, Wong KK, Lau CS, Lam ET, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology.* 2020; 129:104500.

10. Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical evaluation of self-collected saliva by RT-qPCR, direct RT-qPCR, RT-LAMP, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol*. 2020; JCM.01438-20.
11. Omi K, Takeda Y, Mori M. SARS-CoV-2 qRT-PCR Ct value distribution in Japan and possible utility of rapid antigen testing kit. *medRxiv*. 2020:2020.06.16.20131243.
12. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol*. 2020; 129:104455.
13. Weitzel T, Legarraga P, Iruretagoyena M, Pizarro G, Vollrath V, Araos R, et al. Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *bioRxiv*. 2020:2020.05.27.119255.
14. Weiss A, Jellingsø M, Sommer MOA. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*. 2020; 58.
15. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *New England Journal of Medicine*. 2020; 382(22):2081-90.
16. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020: ciaa638.
17. Lee S, Kim T, Lee E, Lee C, Kim H, Rhee H, et al. Clinical Course and Molecular Viral Shedding Among Asymptomatic and Symptomatic Patients With SARS-CoV-2 Infection in a Community Treatment Center in the Republic of Korea. *JAMA Internal Medicine*. 2020.

18. World Health Organization. Post-market surveillance of in-vitro diagnostics. 2015.

19. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19) 2020 [updated 13 May 2020]. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19)).

20. World Health Organization. COVID-19 Target product profiles for priority diagnostics to support response to the COVID-19 pandemic v.0.1 2020 [updated 31 July 2020]. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-target-product-profiles-for-priority-diagnostics-to-support-response-to-the-covid-19-pandemic-v.0.1>.

21. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2020(8).

22. World Health Organization. Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected 2020 [updated 19 March 2020]. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19)).

23. World Health Organization. Rational use of personal protective equipment (PPE) for coronavirus disease (COVID-19) 2020 [updated 4 April 2020]. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-\(covid-19\)-and-considerations-during-severe-shortages](https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-(covid-19)-and-considerations-during-severe-shortages).

24. World Health Organization. WHO COVID-19 Case definition 2020 [updated 7 August 2020]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.1.

شناسایی - آنتی ژن در تشخیص عفونت SARS-CoV-2 با استفاده از روش های سنجش ایمنی سریع

ضمیمه ۱

ضمیمه: ارزش اخباری مثبت (PPV) و ارزش اخباری منفی (NPV) و تعداد آزمایشات مثبت (TP)، مثبت کاذب (FP)، منفی واقعی (TN) و منفی کاذب (FN) در جمعیت ۱۰۰۰۰۰ نفر با شیوع COVID-19 در شیوع ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰٪ و بر اساس معیارهای عملکرد توصیه شده تخمین زده شده است: حساسیت ۷۰٪، ۸۰٪، ۹۰٪ و ویژگی ۹۷،۵٪ و ۹۹،۵٪.

کل	تعداد با آزمایش مثبت	تعداد با بیماری	FN	TN	FP	TP	PPV	NPV	ویژگی	حساسیت	شیوع (%)	مثال شیوع گروه های هدف
100000	5875	5000	1500	92625	2375	3500	59,6	98,4	97,5	70	5	جمعیت عمومی علامت دار؛ شاخص تماس های با مورد بیمار
100000	3975	5000	1500	94525	475	3500	88,1	98,4	99,5	70		
100000	6375	5000	1000	92625	2375	4000	62,8	98,9	97,5	80		
100000	4475	5000	1000	94525	475	4000	89,4	99,0	99,5	80		
100000	6875	5000	500	92625	2375	4500	65,5	99,5	97,5	90		
100000	4975	5000	500	94525	475	4500	90,5	99,5	99,5	90		
100000	9250	10000	3000	87750	2250	7000	75,7	96,7	97,5	70	10	سرایت در جامعه: بیماران علامت داری که به مراکز دولتی مراجعه می کنند؛ اطرافیان نزدیک با فرد بیمار؛ جوامع بسته با طغیان تایید شده
100000	7450	10000	3000	89550	450	7000	94,0	96,8	99,5	70		
100000	10250	10000	2000	87750	2250	8000	78,0	97,8	97,5	80		
100000	8450	10000	2000	89550	450	8000	94,7	97,8	99,5	80		
100000	11250	10000	1000	87750	2250	9000	80,0	98,9	97,5	90		
100000	9450	10000	1000	89550	450	9000	95,2	98,9	99,5	90		
100000	16000	20000	6000	78000	2000	14000	87,5	92,9	97,5	70	20	افراد علامت دارد در مراکز ارجاع؛ افراد علامت دار یا غربالگری کارکنان مراقبت بهداشتی - درمانی؛ مراقبت بهداشتی در منزل
100000	14400	20000	6000	79600	400	14000	97,2	93,0	99,5	70		
100000	18000	20000	4000	78000	2000	16000	88,9	95,1	97,5	80		
100000	16400	20000	4000	79600	400	16000	97,6	95,2	99,5	80		
100000	20000	20000	2000	78000	2000	18000	90,0	97,5	97,5	90		
100000	18400	20000	2000	79600	400	18000	97,8	97,6	99,5	90		
100000	22750	30000	9000	68250	1750	21000	92,3	88,4	97,5	70	30	افراد علامت دار کارکنان خدمات بهداشتی - درمانی / نظافت چی ها، ساکنان خانه های مراقبت و نگهداری سالمندان و ...
100000	21350	30000	9000	69650	350	21000	98,4	88,6	99,5	70		
100000	25750	30000	6000	68250	1750	24000	93,2	91,9	97,5	80		
100000	24350	30000	6000	69650	350	24000	98,6	92,1	99,5	80		
100000	28750	30000	3000	68250	1750	27000	93,9	95,8	97,5	90		
100000	27350	30000	3000	69650	350	27000	98,7	95,9	99,5	90		