

کنترل های ۴ سطحی SARS-CoV-2 Sample شرکت پژوهش و توسعه امیر پیوند in vitro diagnostic use Ref: APSSC

مقدمه:

عامل بیماری COVID-19 متعلق به خانواده Coronaviridae می باشد. این ویروس یک beta-coronavirus است که در دسامبر سال ۲۰۱۹ در منطقه هوپای کشور چین کشف شد و در ماه های ابتدایی سال ۲۰۲۰ منجر به همه گیر شدن عفونت دستگاه تنفسی گردید. کرونا ویروس ها، ویروس های پوشش داری اند که دارای RNA تک رشته ای هستند (ویروس ای با بزرگترین رشته RNA). ویروس آن ها اکثراً کروی است و زوائد گلیکوپروتئینی (S) در پوشش ویروس قرار دارد. سایر پروتئین های ساختمانی این ویروس عبارتند از: Nucleocapsid (N) و Envelope (E), Matrix (M).

کاربرد:

کنترل های SARS-CoV-2 sample شرکت پژوهش و توسعه امیر پیوند برای تنظیم کردن و کنترل کیفی (داخلی و خارجی) آزمایشگاه های تشخیص مولکولی یا بالینی که تست COVID-19 RT-PCR را انجام میدهند یا قصد انجام آن را دارند طراحی شده است. کنترل های SARS-CoV-2 از نمونه های شناخته شده، تولید شده و غیرفعال شده ای که از سوپا نازوفارینژیال و اوروفارینژیال در محیط انتقال ویروس تهیه شده اند. (جدول ۱)

مشخصات:

کنترل های SARS-CoV-2 sample لیوفیلیزه شده بسته بندی و پک شده اند. کنترل ها قبل از استفاده نیاز به آماده سازی دارند (به قسمت آماده سازی کنترل ها مراجعه شود).

محتوای کیت:

شماره	ترکیبات	حجم
۱	کنترل منفی	لیوفیلیزه
۲	کنترل مثبت (میزان کم)	لیوفیلیزه
۳	کنترل مثبت (میزان متوسط)	لیوفیلیزه
۴	کنترل مثبت (میزان زیاد)	لیوفیلیزه
۵	بافر آماده سازی	۲۰۰۰ میکرولیتر

شرایط نگهداری و انتقال:

شرایط خاصی برای حمل و نقل نیاز نیست. همه کنترل های لیوفیلیزه شده در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد قابل نگهداری هستند. یکبار بسته را باز کرده و ویال لیوفیلیزه شده کنترل مورد نظر را با بافر موجود در کیت آماده کنید و فوراً در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری کنید. بعد از آماده سازی کنترل ها باید آنها را برای جلوگیری از فریز و دفریز شدن مجدد، تقسیم کنید. کنترل ها تا تاریخ انقضای درج شده روی لیبل پایدار هستند. شرکت پژوهش و توسعه امیر پیوند، هیچگونه مسئولیتی در قبال نامناسب مورد استفاده قرار دادن کنترل های موجود در کیت ندارد.

کنترل های لیوفیلیزه شده بهتر است در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد منتقل شوند. معرف های استفاده نشده و زباله ها را مطابق قوانین وزارت بهداشت دفع کنید. توجه: فریز و دفریز کردن غیر ضروری منجر به نتایج نادرست می شود.

ایمنی زیستی:

- به شدت توصیه میشود که هر آزمایشگاه برای تاسیسات و روش هایی که برای تایید بیماران مشکوک به COVID-19 انجام میدهد، ارزیابی ریسک انجام دهد. پس از انجام ارزیابی ریسک این امکان وجود دارد که روش های اضافه تر ایمنی زیستی مانند PPE را در زمان کار با بیماران و نمونه های مشکوک بکار بگیرید.
- قبل از شروع به کار بروشور را مطالعه کنید.
- روش های ضد عفونی آزمایشگاهی پایه را باید در هر زمان انجام داد.
- هر نمونه و کنترل را عفونی در نظر بگیرید.

احتیاط:

- کیفیت نمونه از اهمیت بالایی برخوردار است و می تواند نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد. به منظور به حداقل رساندن تخریب نمونه کنترل ها توسط ریبونوکلاز، توصیه می شود بلافاصله بعد از آماده سازی کنترل ها استخراج RNA ویروس توسط کیت دارای IVD آغاز گردد. هنگام کار با نمونه های کنترل، به منظور پیشگیری از آلودگی ریبونوکلاز از طریق دست، همیشه از دستکش استفاده کنید.
- RT-PCR روش بسیار حساسی است. بنابراین، می بایست جهت جلوگیری از دریافت نتایج مثبت کاذب ناشی از آلودگی با cDNA یا محصولات PCR از نمونه های دیگر، اقدامات احتیاطی انجام گیرد. مجموعه ای از میکروبیوتوب ها، سرمیلهای دارای فیلتر آنزول، دستکش یکبار مصرف و روپوش آزمایشگاهی تمیز باید در آزمایشگاه در دسترس باشد. کار باید در یک سو حرکت کند. هرگز مخلوط ها و محصولات واکنش را در جهت مخالف حرکت ندهید.
- میزکارهای آزمایشگاه، بپیت ها و روپوش های آزمایشگاهی به طور منظم باید تمیز گردند.
- توصیه میشود از سرمیلهای حاوی فیلتر آنزول در طول انجام کار استفاده کنید. تعویض دستکش ها هنگام دست زدن به میکروبیوتوب های حاوی RNA یا DNA، امری ضروری است. پس از انجام PCR باید میکروبیوتوب ها با احتیاط باز شوند تا از ریختن محصولاتی که به تعداد زیاد تکثیر یافته اند جلوگیری شود.
- در طول نگهداری و حمل و نقل، ترکیبات را به حالت ایستاده نگه دارید.
- قبل از استفاده از کنترل ها، ویال ها را از جهت نشستی و هرگونه آسیب بررسی کنید.
- هر یک از کنترل ها را قبل از باز کردن و آماده سازی با بافر در دمای اتاق به مدت کوتاهی اسپین کنید.
- بعد از استفاده، سرمیلهای باید در سطل زباله حاوی محلول ۱۰ درصد سدیم هیپوکلریت دور ریخته شوند.

- بعد از انجام عملیات، سطوح نواحی کار و ابزار باید با محلول تازه تهیه شده سدیم هیپوکلریت ۱۰ درصد یا AP-RAD PCR Clean ضد عفونی گردند و بعد از آن با الکل ۷۵ درصد یا آب خالص تمیز شوند.
- در نهایت، لامپ UV را برای ضد عفونی کردن سطوح کار به مدت ۳۰ دقیقه روشن کنید.
- دستگاههای PCR برای این سنجش باید بطور منظم مطابق دستورالعمل دستگاه به منظور حذف cross-talks بین کانالها، کالیبر گردند.

تهیه کنترل نمونه لیوفیلیزه شده:

- تمام ویال های کنترل را با ۱۰۰۰g به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- ۵۰۰ میکرولیتر بافر آماده کیت را با ویال ها اضافه کنید و بگذارید ۵ دقیقه بماند و سپس مخلوط کنید.
- به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس کنید تا کاملاً حل و یکنواخت شود.
- کنترل های نمونه آماده شده را برای مرحله استخراج RNA ویروس تقسیم کنید.
- از نمونه های کنترل آماده شده به عنوان نمونه های بالینی استفاده کنید و RNA ویروس را مطابق پروتکل کیت استخراج کنید.

کارایی:

کنترل کیفیت:

همه شماره بیج ها، تست های کنترل کیفی از جمله استخراج RNA ویروس و RT-PCR را با استفاده از کیت های تایید شده و تشخیصی COVID-19 توسط دستگاه روتورجین Qiagen پاس شدند. دقت درون سنجی: دو ویال از هر یک از نمونه های کنترل (با Ct پایین، متوسط و بالا) با همان اپراتور تحت شرایط سنجش مشخص استخراج شدند و پنج مرتبه تست تایید شد. ضریب تغییرات (CV%) برای همه سطح ها کمتر از ۵ درصد مشاهده شد. دقت بین سنجی: دو تکرار برای هر یک از ویال های کنترل (با Ct پایین، متوسط و بالا) توسط اپراتور در ۵ روز متوالی استخراج انجام شد و تحت سنجش مشخص RT-PCR قرار گرفت. ضریب تغییرات (CV%) برای همه سطح ها کمتر از ۵ درصد مشاهده شد.

محدودیت ها:

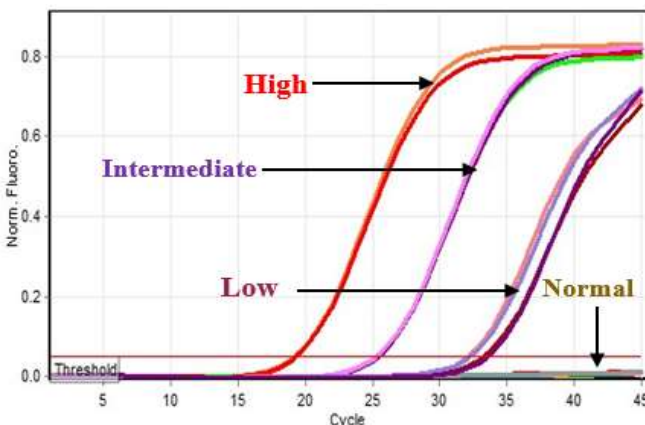
- نمونه های کنترل با استفاده از روش های استخراج RNA ویروس COVID-19 انسانی و روش های تشخیصی شناسایی شده اند.
- برای استفاده از نمونه های کنترل باید به پروتکل های آماده سازی، استخراج و روش تست RT-PCR آن برای رسیدن به نتایج مورد اعتماد پایبند بود.
- فقط پرسنل آموزش دیده بخش مولکولی باید آماده سازی، جابه جایی و آزمایش نمونه های کنترل را انجام دهند.
- مقدار Ct نمونه های کنترل مثبت بوسیله کیت موجود و دستگاه ریل تایم تعیین شده است بنابراین ممکن است نتایج با توجه به موارد ذکر شده متفاوت باشد.

تداخلات:

- نتایج مثبت کاذب ممکن است بر اثر انتقال آلودگی از نمونه های مثبت یا کنترل های مثبت رخ دهد.
- نتایج منفی کاذب اساساً به علت ضعف در نگهداری، آماده سازی یا تخریب و عدم موفقیت در استخراج و مراحل RT-PCR نمونه های کنترلی است.

دفع ضایعات:

- برای دفع ضایعات به قوانین مصوب وزارت بهداشت توجه کنید.
- در صورتی که ضایعات منشا انسانی یا حیوانی داشته باشند به عنوان مواد خطرناک زیستی شناخته شده و باید با احتیاط دفع گردند. در هنگام استفاده و یا دفع نمونه ها از اقدامات احتیاطی عمومی استفاده کنید.



*Graph reveals the results of 4 controls

Sample Control Ct. Value:

جدول ۱

RT-PCR Results of Sample Controls SARS-CoV-2 by 3 different kits performed by Qiagene 5 Plex HRM Real time PCR Machine										
QUALITY CONTROL	Payvand Lab LDT Ct **Value			Sansure Biotech kit Ct** Value			Pishtazteb kit Ct** Value			
	RNase P	Orf1b Gene	N Gene *	RNase P	Orf1b Gene	N Gene	RNase P	RdRp Gene	N Gene	
Normal	Mean	24	Negative	Negative	26	Negative	Negative	23.5	Negative	Negative
	Range	23-25	Negative	Negative	25-27	Negative	Negative	22.5-24.5	Negative	Negative
	CV%	0.45	Negative	Negative	0.25	Negative	Negative	1.53	Negative	Negative
High	Mean	26	21.5	20	27	22.5	20	25	23.5	23
	Range	25-27	20.5-22.5	19-21	26-28	21.5-23.5	19-21	24-26	22.5-24.5	22-24
	CV%	0.34	1.12	1.08	0.24	1.51	0.59	1.53	1.42	0.39
Intermediate	Mean	25	28.5	27	27	29	27	25	30	30
	Range	24-26	27.5-29.5	26-28	26-28	28-30	26-28	24-26	29-31	29-31
	CV%	0.56	0.55	0.63	0.79	0.55	0.33	0.74	0.77	0.37
Low	Mean	25.5	31	29.5	27	31.5	30	27	34	32
	Range	24.5-26.5	30-32	28.5-30.5	26-28	30.5-32.5	29-31	26-28	33-35	31-33
	CV%	1.36	1.28	0.5	0.2	0.93	0.39	0.27	1.39	1.09

**Real Time PCR Cycle threshold

علامت و توضیحات	
	سری ساخت
	شماره رفرنس
	تاریخ تولید
	تاریخ انقضا
	مطالعه بروشور
	استفاده در موارد تشخیصی و بالینی
	استفاده در موارد تحقیقاتی
	شرایط نگهداری
	آدرس شرکت
علامت خطر	
	

جهت ارتباط با واحد پشتیبانی با شماره ۰۲۱-۲۶۴۲۲۹۴۰ تماس بگیرید.