

۹. بعد از انجام عملیات، سطوح نواحی کار و ابزار باید با محلول تازه تهیه شده سدیم هیپوکلریت ۱۰٪ یا AP-RAD PCR Clean ضد عفونی گردند و بعد از آن با الکل ۷۵٪ یا آب خالص تمیز شوند.
۱۰. در نهایت، لامپ UV را برای ضد عفونی کردن سطوح کار به مدت ۳۰ دقیقه روشن کنید.
۱۱. دستگاهای 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.
- ۱۰۰ میکرولیتر بافر آماده کیت را با ویال ها اضافه کنید و بگذارید ۲۰ دقیقه بماند و سپس مخلوط شود.
- به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس کنید تا کاملاً حل شده و یکنواخت شود.
- کنترل های RNA آماده شده را برای استفاده های چندگانه تقسیم کنید.
- از سری کنترل ها به عنوان نمونه های بالینی استخراج شده، استفاده کنید و آنها را طبق SOP کیت IVD تا تست جامع آزمایشگاهی (LDT) اضافه کنید.

کارایی:

کنترل کیفیت:
همه شماره بیج ها تست RT-PCR کنترل کیفی با استفاده از کیت تشخیص COVID-19 توسط دستگاه روتورجین Qiagen پاس شدند.

دقت درون سنجی:

پنج تکرار برای هر یک از ویال های کنترل (با Ct پایین، متوسط و بالا) با همان اپراتور تحت سنجش مشخص RT-PCR قرار گرفت. 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 تحت سنجش مشخص RT-PCR قرار گرفت. ضریب تغییرات (CV%) برای همه سطح ها کمتر از ۵ درصد مشاهده شد.

محدودیت ها:

- کنترل ها با استفاده از روش های تشخیص COVID-19 انسانی که استفاده میشوند شناسایی شده اند.
- برای استفاده از این کنترل ها باید به پروتکل های آماده سازی و روش تست آن برای رسیدن به نتایج مورد اعتماد پایبند بود.
- فقط پرسنل آموزش دیده بخش مولکولی باید آماده سازی و آزمایش این کنترل ها را انجام دهند.
- کنترل ها در موازات با کنترل های داخلی کیت تشخیصی قابل استفاده اند.
- مقدار Ct کنترل های مثبت بوسیله کیت موجود و دستگاه ریل تایم تعیین شده است بنابراین ممکن است نتایج باتوجه 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 کنترل های RNA می باشد.

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.

مقدمه:

عامل بیماری COVID-19 متعلق به خانواده Coronaviridae می باشد. این ویروس یک beta-coronavirus است که در دسامبر سال ۲۰۱۹ در منطقه هوایی 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: Envelope (E), Matrix (M) و Nucleocapsid (N).

کاربرد:

کنترل های SARS-CoV-2 RNA شرکت پژوهش و توسعه امیر پیوند برای تنظیم و کنترل کیفی (داخلی و خارجی) آزمایشگاه های تشخیصی مولکولی یا بالینی که تست COVID-19 RT-PCR را انجام میدهند یا قصد انجام آن را دارند طراحی شده است. کنترل های RNA مثبت SARS-CoV-2 از نمونه های شناخته شده، تایید شده و غیرفعال شده تهیه شده اند. (جدول ۱)

مشخصات:

کنترل های SARS-CoV-2 RNA لیوفیلیزه شده بسته بندی و یک شده اند. کنترلها 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	۵۰۰ میکرولیتر

شرایط نگهداری و انتقال:

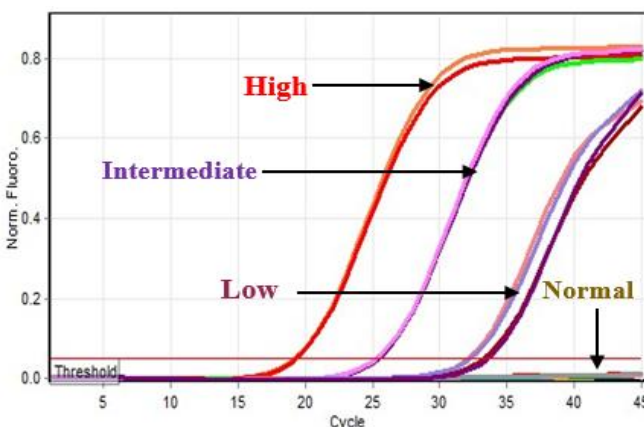
شرایط خاصی برای حمل و نقل نیاز نیست. همه کنترل های لیوفیلیزه شده در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد داخل بسته فویل قابل نگهداری هستند. یکبار بسته را باز کرده و ویال لیوفیلیزه شده کنترل مورد نظر را با بافر موجود در کیت آماده کنید و فوراً در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری کنید.
بعد از آماده سازی کنترل ها باید 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 استفاده کردن 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 بگیرد.
- قبل از شروع به کار روش کار را مطالعه کنید.
- روش های ضد عفونی آزمایشگاهی پایه را باید در هر زمان انجام داد.
- هر نمونه و کنترل را عفونی در نظر بگیرد.

احتیاط:

۱. کیفیت نمونه RNA از اهمیت بالایی برخوردار است و می تواند نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد. به منظور به حداقل رساندن تخریب RNA کنترل ها توسط ریبونوکلاز، توصیه می شود بلافاصله بعد از آماده سازی کنترل ها RT-PCR آغاز گردد. هنگام کار با RNA، به منظور پیشگیری از آلودگی ریبونوکلاز از طریق دست، همیشه از دستکش استفاده کنید.
۲. RT-PCR روش بسیار حساسی است. بنابراین، می بایست جهت جلوگیری از دریافت نتایج مثبت کاذب ناشی از آلودگی با cDNA، RNA یا محصولات PCR از نمونه های دیگر، اقدامات احتیاطی انجام گیرد. مجموعه ای از میکروبیوتیپ ها، سرمسپلرهای 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.
۳. میکزهای آزمایشگاه، پیت ها و روپوش های آزمایشگاهی به طور منظم باید تمیز گردند.
۴. توصیه میشود از سرمسپلرهای حاوی فیلتر آنزول در طول انجام کار استفاده کنید. تعویض دستکش ها هنگام دست زدن به میکروبیوتیپ های حاوی RNA یا DNA امری ضروری است. پس از انجام PCR باید میکروبیوتیپ ها با احتیاط باز شوند تا از ریختن محصولاتی که به تعداد زیاد تکثیر یافته اند جلوگیری شود.
۵. در طول نگهداری و حمل و نقل، ترکیبات را به حالت ایستاده نگه دارید.
۶. قبل از استفاده از کنترل ها، ویال ها را از جهت نشی و هرگونه آسیب بررسی کنید.
۷. هر یک از کنترل ها را قبل از باز کردن و آماده سازی با بافر در دمای اتاق به مدت کوتاهی اسپین کنید.
۸. بعد از استفاده، سرمسپلرها باید در سطل زباله حاوی محلول ۱۰ درصد سدیم هیپوکلریت دور ریخته شوند.









*Graph reveals the results of 4 controls

RNA Control Ct. Value:

جدول ۱

RT-PCR Results of RNA 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	25.5	Negative	Negative	25	Negative	Negative	23	Negative	Negative
	Range	24.5-26.5	Negative	Negative	24-26	Negative	Negative	22-24	Negative	Negative
	CV%	0.27	Negative	Negative	0.85	Negative	Negative	1.38	Negative	Negative
High	Mean	25.5	19.5	18.5	24.5	21	19.5	22.5	19.0	19.0
	Range	24.5-26.5	18.5-20.5	17.5-19.5	23.5-25.5	20-22	18.5-20.5	21.5-23.5	18-20	18-20
	CV%	0.62	0.64	1.14	0.82	0.82	0.89	1.46	0.25	1.62
Intermediate	Mean	25	26.5	24.5	25	27.5	25.5	23	24.5	24
	Range	24-26	25.5-27.5	23.5-25.5	24-26	26.5-28.5	24.5-26.5	22-25	23.5-25.5	23-25
	CV%	2.67	0.78	0.26	1.28	0.71	0.59	1.91	0.58	1.06
Low	Mean	25.5	32.0	31	25	33	32.5	23	33.0	30
	Range	24.5-26.5	31.0-33.0	30-32	24-26	32-34	31.5-33.5	22-25	32.0-34.0	29-31
	CV%	0.76	1.25	1.2	2.65	0.76	1.86	2.74	1.24	3.7

**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.