دفترچه راهنما

کیت شناسایی و سنجش کیفی

Human Papillomavirus (HPV)

با روش

Real-Time PCR

شرکت فناوری بن یاخته

Doc. # :IFU-HPV4-01 Doc. Version : 05 Revision Date :01-02-2023

فهرست مطالب

شماره رفرانس ۳

شرح کیت ۳

اصول ۳

اطلاعات پاتوژن ٤

محتویات کیت ٥

نگهداری و انتقال کیت ٥

نکات احتیاط عمومی ٦

هشدارها و محدودیت ها ۷

نمونه گیری و نگهداری ۸

عوامل تداخلی ۸

آماده‌سازی ۹

اضافه کردن الگو ۹

برنامه ریزی دمایی ۱۰

آنالیز نتایج ۱۱

ارزیابی آنالیتیکال ۱٦

ارزیابی کلینیکال ۱۸

نشانه ها ۱۹

اطلاعات تماس ۱۹

شماره رفرانس

- BONHPV4/2-24

شرح کیت

این کیت بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به صورت Real-Time ساخته‌شده‌است. این محصول برای تشخیص در شرایط آزمایشگاهی تهیه شده و برای تشخیص ١٤ نوع رایج ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) با ریسک بالا (شامل انواع ١٦، ١٨، ٣١، ٣٣، ٣٥، ٣٩، ٤٥، ٥١، ٥٢، ٥٦، ٥٨، ٥٩، ٦٦، ٦٧ و ٦٨) و ٢ نوع رایج HPV با ریسک پایین (شامل انواع ۶ و ١١) در نمونه‌های سواب دهانه رحم (Cervical)، آلت تناسلی (Penis)، واژن (Vagina) طراحی شده است و نشانه‌ای برای تشخیص عفونت توسط این پاتوژن است .

نتایج تشخیصی به‌دست‌آمده توسط این محصول باید همراه با سایر داده‌های بالینی یا آزمایشگاهی تفسیر شوند.

اصول

تشخیص پاتوژن توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) بر اساس تکثیر مناطق خاص ژنوم ویروس می‌باشد. در واکنش Real-Time PCR محصول تکثیر شده از طریق رنگ‌های فلوروسنت شناسایی می‌شوند. مشاهده شدت فلوروسنت در حین واکنش PCR (به صورت Real-Time) تشخیص و کمی-سازی محصولات در حال تکثیر را بدون نیاز به باز کردن مجدد لوله‌های واکنش پس از اجرای PCR ممکن می‌سازد.

دامنه کاربرد

تشخیص DNA ویروس پاپیلومای انسانی با ریسک بالا (شامل انواع ١٦، ١٨، ٣١، ٣٣، ٣٥، ٣٩، ٤٥، ٥١، ٥٢، ٥٦، ٥٨، ٥٩، ٦٦، ٦٧ و ٦٨) و ٢ نوع رایج HPV با ریسک پایین (شامل انواع ۶ و ١١) در نمونه‌های سواب دهانه رحم (Cervical)، آلت تناسلی (Penis)، واژن (Vagina)

اطلاعات پاتوژن

عفونت HPV (Human Papillomavirus) یا ویروس به‌عنوان عامل‌سرطان‌دهانه‌رحم درزنان شناخته می‌شود . HPV یک ویروس حاوی‌ماده ژنتیکی از جنس DNA دورشته ای به طول ۸۰۰۰ جفت باز است.

ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) یک ویروس DNA منتقله از راه جنسی است که سبب عفونت در سلول‌های اپیتلیال انسان می‌شود. بیش از ۲۰۰ ژنوتیپHPV یافت شده است که باتوجه به میزان خطرناک بودن آنها در ایجاد سرطان، در گروه‌های پرخطر (HR) یا کم‌خطر(LR) طبقه‌بندی می‌شوند. DNA ویروسیHPV را می‌توان به‌عنوان ویرون‌های اپیزومی در سیتوپلاسم یافت یا اینکه به‌صورت ادغام شده درکروموزوم میزبان پیداکرد. عفونت‌مداوم با برخی از ژنوتیپ هایHPV منجر به ایجاد سرطان-دهانه‌رحم می‌شود .

HPV های پرخطر که HPV های انکوژنیک نیز نامیده می‌شوند باعث ایجاد سرطان شده و شامل تایپ‌های۱۶ ، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۷و ۶۸ است. برخی از HPV های با فراوانی کمتر نیز وجود دارند که احتمالاً برای انسان سرطان‌زا هستند شامل ۲۶ ، ۵۳، ۶۶، ۷۰، ۷۳ و ۸۲ هستند که درگروهHPV های پرخطر یا احتمالاً درمعرض‌خطر طبقه‌بندی می‌شوند .HPV های کم‌خطر مانند ۶ و ۱۱ می‌توانند باعث ایجاد زگیل‌تناسلی و تغییرات درجه‌پایین در سلول‌ها شوند، اما به ندرت باعث‌سرطان می‌شوند. عفونت HPV خطرناک احتمال بالایی برای ایجاد سرطان‌های‌رحم دارد که اثبات شده‌است. تقریباً ۹۹/۷ درصد از سرطان‌های دهانه‌رحم ناشی از عفونت HPV پرخطر است. سرطان دهانه‌رحم دومین سرطان بدخیم شایع در بین زنان در سراسر جهان است.

عفونت HR HPV می‌تواند تغییرات سیتولوژیکی و بافت‌شناسی را ایجاد کند که با غربالگری پاپ (Pap Screening)، کولپوسکوپی (Colposcopy) یا بیوپسی (Biopsy) قابل‌تشخیص است. با این‌وجود، زنانی که آزمایش پاپ‌اسمیر منفی یا HR HPV DNA منفی را داشته‌اند، باز هم احتمال بالایی در ابتلا به ضایعات پیش‌سرطانی‌دهانه‌رحم دارند.

محتویات کیت

Title	24 Tests
	Volume per Vial
HPVMaster 1	350 µl/tube × 1
HPVMaster 2	350 µl/tube × 1
HPVMaster 3	350 µl/tube × 1
HPVMaster 4	350 µl/tube × 1
HPVMaster B	100 µl
Positive Control	100 µl

نگهداری انتقال کیت

- ✓ کلیه محتویات این کیت باید در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و در تاریکی نگهداری گردد، همچنین به منظور انتقال و جابه‌جایی کیت از یونولیت با درب و یخ‌خشک استفاده نمایید.
- ✓ نگهداری کیت در دمای۴ درجه‌سانتی‌گراد هیچ‌گاه نباید بیشتر از یک‌ساعت شود.
- ✓ این کیت نیاز به حمل برروی بسته‌های یخزده (Frozen Ice Pack) را دارد.
- ✓ همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همان‌طور که روی برچسب بسته‌بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص شده پایدار هستند.
- ✓ از چرخه‌های متعدد ذوب و انجماد (Freeze-Thaw) خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و درنتیجه عدم کارایی کیت می‌شود.
- ✓ از قراردادن مستقیم اجزای کیت در معرض نور، گرما یا رطوبت خودداری کنید.
- ✓ معرف‌ها را قبل از استفاده در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله‌ها را به طور مختصر سانتریفیوژ کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به طور یکنواخت مخلوط شده‌اند.

مواد و تجهیزات مورد نیاز که باید توسط کاربر تدارک دیده شود؛

۱. کیت استخراج DNA
۲. سمپلر قابل‌تنظیم دراندازه‌هاش مختلف و نوك سمپلر فیلتردار

۳. سانتریفوژ رومیزي
۴. بلوك خنك كننده
۵. وایتکس ۱۰ درصد
٦. گان و دستکش
۷. دستگاه Rotor-Gene , MIC, Azur با ٤ کانال فلوروسنت رنگ Green و Yellow و Orange و Red و یا انتخاب فلورفورهای FAM و HEX و Texas Red(ROX) و CY5
۸. نرم افزار Rotor-Gene Q نسخه ۱٫۷٫۹٤ ، نرم افزار Rotor-Gene 6000 نسخه ۱٫۷٫٦٥, ۱٫۷٫۸۷, ۱٫۷٫۹٤ و نرم افزار Rotor-Gene 3000 نسخه ٦٫۰٫۲۳ و یا بالاتر.
۹. استریپ و کپ ۰٫۱ ml برای استفاده در روتور ۷۲ چاهکی و یا لوله‌های PCR 0.2 ml برای روتورهای ۳٦ چاهکی

نکات احتیاط عمومی

۱. لطفاً دستورالعمل را با دقت بخوانید و قبل از استفاده محصول با تمام اجزای کیت آشنا شوید و درحین‌کار دستورالعمل را دقیقاً دنبال کنید.
- ✓ لطفاً قبل از استفاده، ابزارهای Real-Time PCR سازگار را بررسی کنید و فرآیند را با آن‌ها جلو ببرید.
- ✓ از کیت یا اجزای کیت پس از تاریخ انقضا استفاده نکنید.
- ✓ در کیت آزمایش از ماده دیگری استفاده نکنید.

۲. استفاده از سرسمپلرهای فیلتردار و RNase & DNase free
۳. نگهداری‌وتخلیص موادمثبت برای HPV نمونه‌های‌گرفته شده از مریض، کنترل‌ها و محصولات حاصل از PCR باید درمحلی‌کاملا جدا از محل‌نگهداری وآماده‌سازی MasterMix صورت پذیرد.
٤. همه مواد مورد نیاز کیت قبل از شروع کار باید به طورکامل در دمای اتاق ذوب شود.
۵. بعد از ذوب شدن، کلیه مواد (به ویژه استانداردهای‌کیت) را به خوبی پیپتاژ نمایید و به‌طور مختصراسپین‌کنید. این‌امر برای جلوگیری از کاهش عملکردکیت درطی‌زمان به‌طورکامل توصیه می‌شود.
٦. تمام مراحل مربوط به تهیه MasterMix باید بر روی یخ یا جعبه‌های سرد (Cooling Box)انجام شود. استوک اصلی مربوط به Master Mix بعد از برداشتن مقدار مورد نیاز از آن باید به سرعت به فریزر منتقل شود.
۷. هنگام‌کار با موادشیمیائي، همیشه روپوش‌مناسب‌آزمایشگاهي، دستکش‌یکبارمصرف، وعینك‌هاي محافظ داشته باشید.

۸. کیت حاوی کنترل مثبت است. برای جلوگیری از آلودگی که ممکن است باعث ایجاد مثبت کاذب شود، کنترل مثبت را از سایر مواد موجود در کیت کاملا جدا کنید.
۹. PCRبسیار حساس به آلودگی متقابل است، پس‌فرآیند کار را با دقت انجام دهید.
۱۰. هنگام کار با نمونه‌ها و مواد موجود در کیت، برای جلوگیری از آلودگی، دستکش‌ها باید مرتباً تعویض شوند.
۱۱. از تیپ های جداگانه و اختصاصی استفاده کنید. هنگام کار با نمونه‌ها و مواد موجود در کیت از میکروتیپ‌های فیلتر دار برای جلوگیری از ورود آلودگی DNA استفاده کنید.
۱۲. لطفاً لوله‌های PCR را با دو دستکش یکبارمصرف بسته‌بندی کرده و به‌درستی دور بیندازید. لوله‌های PCR پس از امپلیفای را باز نکنید.
۱۳. همه مواد یکبار مصرف، یکبار مصرف هستند، مجدداً استفاده نکنید.
۱۴. مواد موجود در کیت که بلا استفاده هستند، کیت استفاده شده و زباله‌ها باید به‌درستی دور انداخته شوند.
۱۵. پس از آزمایش، محل کار را پاک‌کنید، پیپت‌ها و تجهیزات را با اتانول ۷۵٪ و وایتکس ۱۰٪ اسپری کنید.

هشدارها و محدودیت‌ها

۱. تمامی مراحل آزمایش باید بر اساس اصول GLP[1] توسط پرسنل آموزش دیده دارای پوشش حرفه ای و محافظ (PPE)[2] انجام شود. آزمایش‌های بالینی بر نمونه‌های عفونی باید در هود کلاس دو (Class II Biological Safety Cabinet) در محیط BSL-2 انجام شود.استفاده از دستورالعمل :

Interim Laboratory Biosafety Guideline For Handling and Processing Specimen Associated

۲. پیشنهاد می شود هود و یا استیشن مورد استفاده قبل و بعد از کار با وایتکس ۱۰ درصد تمیز شود و همین طور بعد از کار لامپ UV زده شود .
۳. پیشنهاد می شود محل استخراج DNA ، آماده سازی مخلوط واکنش از فضای آماده کردن اضافه کردن نمونه و نمونه استاندارد جدا باشند زیرا ممکن است نتایج مثبت کاذب به وجود آید .
۴. پس از آماده سازی مخلوط واکنش ، آن را در تاریکی نگهداری نمایید .

[1] Good Laboratoty Practice

[2] Personal Protective Equipment

کنترل‌ها

۱. نمونه بیمار: از محتویات اسید نوکلئیک حاصل از استخراج DNA استفاده شود.
۲. کنترل منفی (NTC): همواره یک نمونه کنترل منفی حاوی آب بجای نمونه استفاده شود.
۳. کنترل مثبت (PTC): از کنترل مثبت کیت به‌جای نمونه در یک واکنش استفاده شود.

نمونه گیری و نگهداری

۱. برای تشخیص ویروس می‌توان از سواب دهانه رحم(Cervical) ، آلت تناسلی (Penis) ، واژن (Vagina) و استفاده کرد.
۲. نمونه مناسب می‌تواند پاپ‌اسمیر یا هر نمونه مشابهی که حاوی میزان کافی از سلول‌های مخاطی دهانه یا گردن رحم باشد.

نگهداری نمونه‌های گرفته شده

نمونه می‌تواند کمتر از ۸ ساعت در یخچال با محدوده دما از ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و برای نگهداری طولانی‌مدت آن، باید در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد منجمد شده و نگهداری شود.

تاریخ انقضای کیت

تاریخ انقضای کیت بر روی جعبه محصول درج شده است.

کنترل داخلی (Internal Control)

در این کیت کنترل داخلی نیز وجود دارد که به کاربر این امکان را می‌دهد که فرآیند تخلیص و احتمال وجود مواد مهارکننده PCR را نیز بررسی کند.

عوامل تداخلی

EDTA (0.5M)، HCl (1N)، دانه‌های سیلیس (µl۱)، خون (µl1)، اوره (۴۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) و بافر لیز عملکرد آزمایش را مهار می کنند. وجود مهارکننده در واکنش با وجود حضور ژن کنترل داخلی (β-گلوبین) قابل ردیابی است.

خالص‌سازی نوکلئیک اسید

جداسازی اسیدنوکلئیک باید توسط کیت‌های جداسازی موجوددربازار مطابق پروتکل‌های جداسازی مواد بالینی خاص انجام شود.

مواد نمونه باید از سلول‌های نمونه‌برداری شده از دهانه و ترشح دستگاه ادراری تناسلی استخراج شده باشد. کیت استخراج DNA در این کیت گنجانده نشده است.

۱) برای نمونه‌های رحم، از وسیله مخصوص برای تراشیدن سلول‌های ضایعات دهانه استفاده کنید، نمونه حاصله را داخل ویال جمع‌آوری نمونه استریل قرار دهید.

۲) نمونه‌های ترشح مجاری ادراری تناسلی، شامل مجرای ادراری مردان، دستگاه تناسلی زنان و ترشح مجرای ادراری است.
۳) نمونه‌ها باید با کیسه یخ زیرصفر درجه‌سانتی‌گراد منتقل شده و استخراج شوند تا بلافاصله DNA به دست‌آید. اگر DNA استخراج شده بلافاصله مورداستفاده قرارنگیرد، باید دردمای ۲۰- درجه سانتی-گراد ذخیره شود.

آماده‌سازی

۱. ابتدا لوله‌ها را روی‌رک‌یخ بگذارید تا محتویات آن‌ها ذوب شوند و محتویات لوله‌ها را به آرامی پیپتاژ و یا ورتکس‌کنید و به‌طور مختصر سانتریفیوژ کنید.
۲. مقدار ۱۴ میکرولیتر HPV Master A را به لوله‌های PCR اضافه کنید.
۳. مقدار ۱ میکرولیتر HPV Master B (در تعویض سر سمپلر در اضافه کردن HPV Master B به HPV Master A مختلف، توجه فرمایید!)
۴. مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه اسید نوکلئیک جدا شده یا ۵ میکرولیتر کنترل مثبت را به لوله‌های PCR جداگانه اضافه کنید. در حین تهیه PCR لازم است همه اجزا در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. از موادبالینی منفی می‌توان به‌عنوان کنترل جداسازی منفی استفاده کرد.
۵. لوله‌ها را ببندید، مختصراً سانتریفیوژ کنید، آنها را داخل دستگاه قرار دهید و اجازه دهید مطابق مشخصات برنامه قید شده در این دفترچه تکثیر شوند. هنگام استفاده از کنترل مثبت یا مواد بالینی بسیار مراقب باشید.
۶. در این مرحله، بهتر است از فضاهای جداگانه برای اضافه‌کردن مستر واکنش و نمونه‌های بیمار استفاده کرد و همچنین در نظر داشته باشید که در ویال‌کنترل مثبت را تنها در محل آماده‌سازی مستر واکنش و فضای تمیز باز کنید.
نکته در هر بار انجام تست یک لوله به‌عنوان No Template Control باید گذاشته‌شود. در NTC به‌جای نمونه استخراج شده از آب استفاده می‌شود که برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد.

اضافه کردن الگو

پس از آماده سازی محلول‌ها و انتقال آن به تیوب‌های واکنش، ابتدا نمونه کنترل منفی (NTC) را آماده کنید. برای این کار، ۵ میکرولیتر از آب بدون نوکلئاز را به تیوب کنترل منفی اضافه نمایید. پس از انتقال به منطقه کار با اسیدنوکلئیک، ۵ میکرولیتر از کنترل مثبت و۵ میکرولیتر از نمونه‌های بیمار را به تیوب‌های مربوطه اضافه نمایید. سپس تیوب‌ها را در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده و نمونه‌ها را نام‌گذاری کنید.

Reaction Setup	Volume
HPV Master A- 1or 2 or 3 or 4	14 µl
HPV Master B	1 µl
Sample or Control	5 µl
Final Volume	20 µl

برنامه ریزی دمایی

دستورالعمل برای دستگاه‌های MIC و Rotor-Gene توصیف شده است. دیگر دستگاه‌های Real-Time PCR دارای کانال‌های Red ، Orange، Green و Yellow نیز مناسب برای استفاده از این کیت هستند. پس از تنظیم‌کردن دستگاه مطابق برنامه زیر، واکنش را راه اندازی کنید. برای آگاهی از نحوه تعریف کانال در دستگاه به کاتالوگ دستگاه مراجعه کنید. مقادیر دمایی هر قسمت در جدول صفحه بعد آورده شده است.

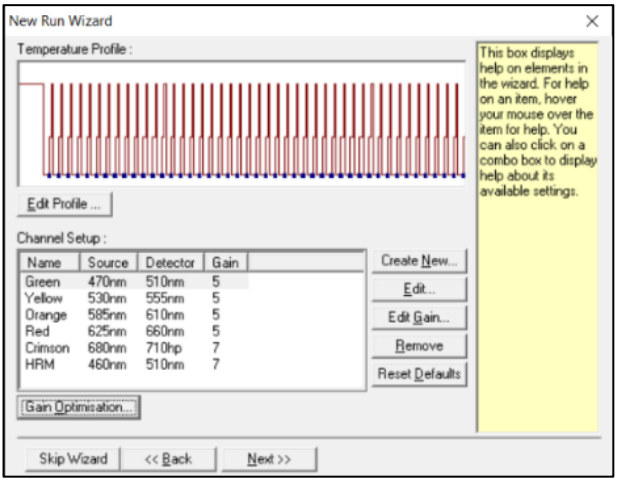
	Temperature	Hold	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	10 min	1
Denaturation	95 °C	10 sec	45
Annealing and Acquisition on Channel Green, Orange, Red and Yellow	55°C	20 sec	
Extension	72°C	20 sec	

علاوه بر تعریف دمایی دستگاه که در قسمت‌بالا آمده است دستگاه باید برای طیف سنجش فلورسنت نیز تنظیم‌گردد. اندازه‌گیری تابش فلورسانس باید برای رنگ‌های FAM، Texas Red، HEX و CY5 تنظیم شود.برای پشتیبانی فنی لطفا با تلفن های شرکت تماس حاصل فرمایید.

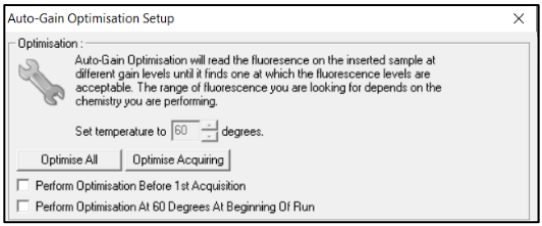
تعریف طیف سنجش فلورسنت در دستگاه ها

دستگاه Rotor-Gene

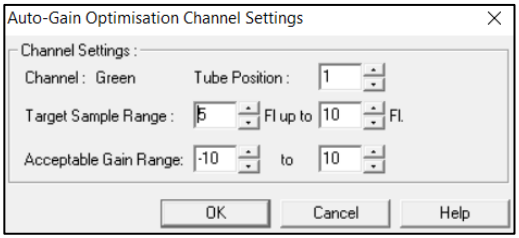
بدین منظور در دستگاه Rotor-gene گزینه‌ی Gain Optimization را انتخاب کنید.



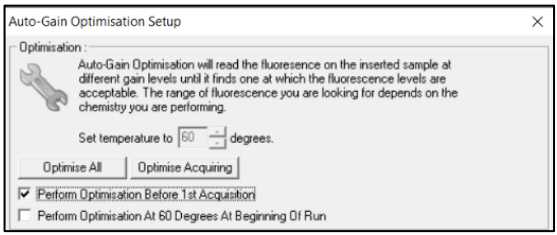
در این صفحه با انتخاب گزینه‌ی Optimise Acquiring برای هر ۴ کانال سبز، زرد، نارنجی و قرمز، بازه‌ی Target sample range از ۵ تا ۱۰ (حالت پیش‌فرض دستگاه) انتخاب شود.



همچنین Gain دستگاه باید برمبنای تیوب شامل HPV Mix1 انجام شود، بنابراین عدد نوشته شده در کادر Tube Position باید صحیح نوشته شده باشد.

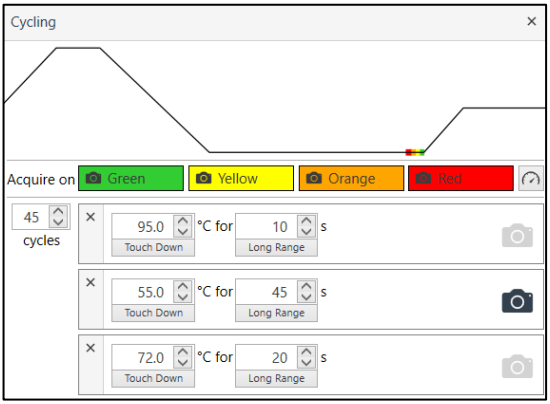


پس از انتخاب بازه‌ی مناسب برای هر کانال، گزینه‌ی Perform Optimization Before 1st Acquisation را انتخاب کرده، و پنجره را ببندید.

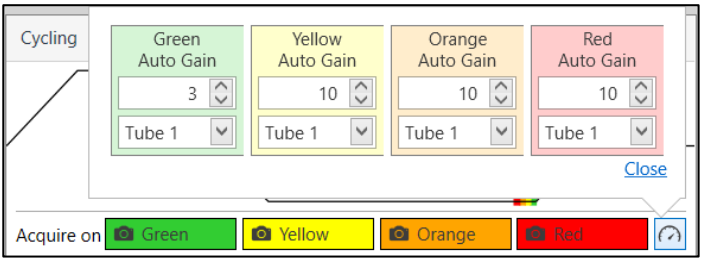


دستگاه MIC

بدین منظور در دستگاه MIC با انتخاب گزینه‌ی Run Profile پروفایل دمایی کیت را وارد کرده و در بخش cycling سنجش فلورسنت را در هر ۴ کانال فعال کنید.



از آنجایی که Gain دستگاه باید برمبنای تیوب شامل HPV Mix1 انجام شود، با بازکردن پنجره‌ی تنظیمات Gain برای کانال‌های مختلف، در کادر مربوط به تیوب Gain، گزینه All tube را از حالت پیش‌فرض به تیوب مورد نظر تغییر دهید.



آنالیز نتایج

۱.آنالیز نتایج توسط نرم افزار مربوطه و بر اساس دستورالعمل دستگاه انجام شود. در ٤ کانال رنگی Green و Yellow و Orange و Red و یا انتخاب فلورفورهای FAM و HEX و TEX و CY5 آستانه را در بازه‌ی مناسب قرار دهید.

۲. برای تفسیر نتایج، مطابق جدول صفحه بعد عمل کنید. خوانش هر یک از میکس‌های ۱ و ۲ در هر یک از کانال‌های‌فلورسانس مشخص‌می‌کند کدام تایپ HPV در نمونه وجود دارد.

	Green	Yellow	Orange	Red
HR1 Mix	16	6/11	بتاگلوبین	**18**
HR2 Mix	33	31/35	39	**45**
HR3 Mix	51	52	56	**58**
HR4 Mix	59	66	67	**68**

بعد از آنالیز باید نتایج را به صورت زیر تفسیر کرد:

۱. نمونه زمانی مثبت می‌شود که دارای دو شرط زیر باشد.

A. دارای منحنی سیگموئیدی و فاز لگاریتمی

B. Ct ، کمتر از ۴۰ برای ژنوتیپ های ۱۶ و Ct، کمتر از 35، برای سایر ژنوتیپ ها

۲. زمانی که منحنی سیگموئیدی نباشد جواب نمونه منفی خواهد بود.

۳. نمونه در میکس ۱ باید در کانال نارنجی که کنترل داخلی(IC) است، مثبت باشد. هرکدام از این شرایط برقرار نباشد، جواب از اعتبار کافی برخوردار نبوده و باید آزمایش دوباره تکرار شود.

باتوجه‌به موارد بالا،

A . نتیجه منفی یک نمونه مستلزم داشتن میکس ۱ مثبت در کانال زرد و جواب منفی برای بقیه میکس‌ها در کانال‌های دیگر است.

B. نتیجه مثبت نیز نیازمند مثبت بودن IC با CT حدود ۲۰ تا ۳۰ است و جدول تفسیر نتایج به‌صورت زیر می‌باشد.

جدول تفسیر نتایج

	Green	Yellow	Orange	Red	Result
HR1 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV16
	-	+	-	-	Pos: HPV6 or HPV11
	-	-	IC	-	Beta-globin(IC)
	-	-	-	+	Pos: HPV18
HR2 Mix	-	+	-	-	Pos: HPV31 or HPV 35
	+	-	-	-	Pos: HPV33
	-	-	+	-	Pos: HPV39
	-	-	-	+	Pos: HPV45
HR3 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV51
	-	+	-	-	Pos: HPV52
	-	-	+	-	Pos: HPV56
	-	-	-	+	Pos: HPV58
HR4 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV59
	-	+	-	-	Pos: HPV66
	-	-	+	-	Pos: HPV67
	-	-	-	+	Pos: HPV68

نکات آنالیز نتایج در دستگاه‌های مختلف

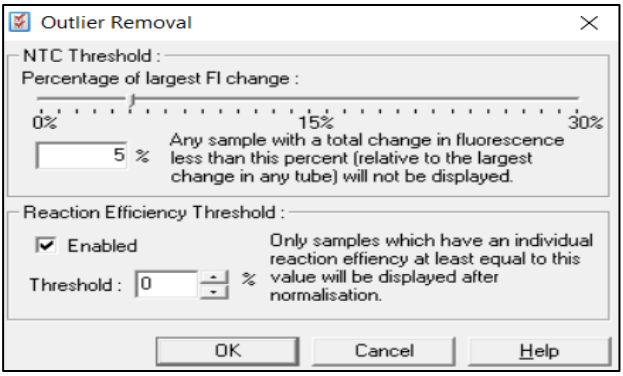
دستگاه Rotor-Gene

آنالیز اطلاعات در دستگاه Rotor-gene 6000 و Rotor-gene 3000 باید توسط نرم‌افزار دستگاه و بر اساس دستورالعمل دستگاه صورت گیرد.

۱. از منوی Quantitation، Analysis را انتخاب کرده و روی یک‌رنگ، به طور مثال Green، دوبار کلیک کنید .

۲. در صورت وجود نویز با کلیک بر گزینه ی Outlier Removal، ترشهلد NTC را بر ۵٪ تنظیم کرده و ترشهلد افیشنسی واکنش را به شکل زیر فعال کنید.

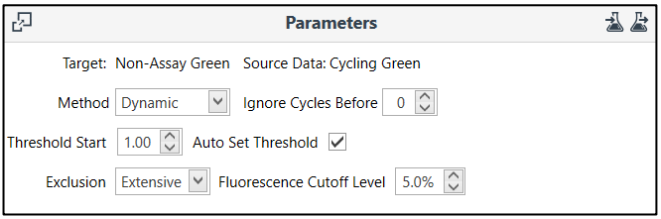
۳. در کانال Green,Orange و Yellow آستانه را بر ۰٫۰۲ و در کانال Red ۰٫۰۲ تنظیم نمایید.



دستگاه MIC PCR

آنالیز اطلاعات در دستگاه Magnetic Induction Cycler (Mic) PCR توسط نرم‌افزار دستگاه و بر اساس دستورالعمل دستگاه صورت گیرد.

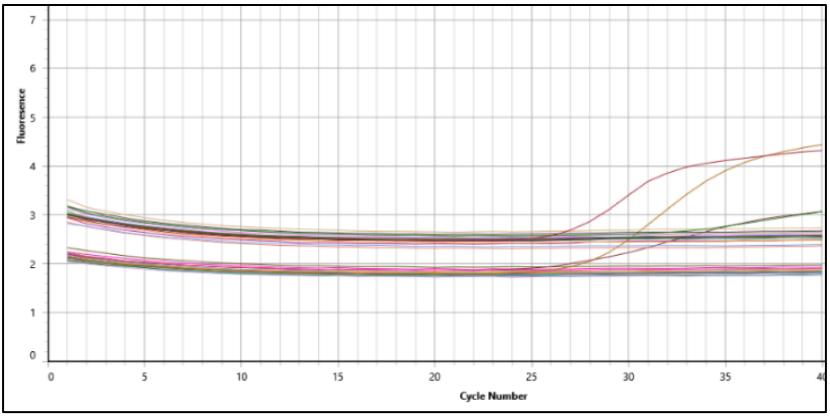
۱. از منوی Analysis انتخاب کرده و روی یک رنگ، به طور مثال Non-Assay Green، کلیک کنید.
۲. در بخش Parameters به طور پیش‌فرض حالت Extensive برای Exclusion انتخاب شده است؛ و در بخش Flourescence Cutoff Level بر ۵٪ تنظیم است. در غیر این صورت، این تنظیمات را وارد کنید
۳. انتخاب Threshold را به صورت اتوماتیک با فعال کردن گزینه‌ی Auto Set Threshold انجام

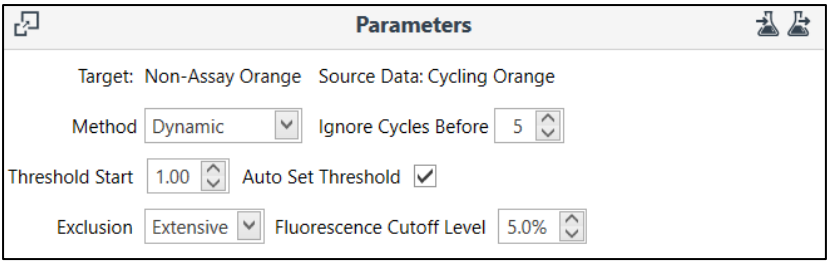


دهید.

٤. مراحل بالا را برای کانال‌های دیگرOrange، Yellow و Red تکرار کنید.

۵. در صورت وجود نویز ابتدایی در بخش Data (شامل داده‌های خام) کانال Orange به شکل زیر، در بخش Parameters با قرار دادن عدد ۵ در کادر مقابل Ignore Cycles Before، ۵ سیکل ابتدایی را نادیده گرفت.





ارزیابی آنالیتیکال

حساسیت آنالیتیکال

باتوجه به نتایج حاصله، حدپایین تشخیصی برای این کیت در تایپ‌های مختلف به شرح زیر است:

Target	LoD
HPV 16	10 copies per PCR
HPV 6	5 copies per PCR
HPV 11	5 copies per PCR

HPV 18	10 copies per PCR
HPV 31	50 copies per PCR
HPV 33	250 copies per PCR
HPV 35	50 copies per PCR
HPV 39	25 copies per PCR
HPV 45	50 copies per PCR
HPV 51	50 copies per PCR
HPV 52	50 copies per PCR
HPV 56	25 copies per PCR
HPV 58	25 copies per PCR
HPV 59	50 copies per PCR
HPV 66	25 copies per PCR
HPV 68	500 copies per PCR

اختصاصیت آنالیتیکال

به جهت بررسی اختصاصیت پرایمرها و پروب‌های محصول برای ویروس HPV احتمال شناسایی غیراختصاصی دیگر عوامل‌عفونی مربوطه مورد بررسی‌قرارگرفته‌است. همچنین‌انتخاب‌شرایط واکنش دقیق مورد تأیید نیز تضمین شده است. کیت مذکور با هیچ کدام از تایپهای HPV کم خطر واکنش متقاطع ندارد و آنها را شناسایی نمی کند.همچنین، این کیت با DNA عوامل زیر واکنش متقاطع ندارد. این عوامل معمولاً از دستگاه ادراری تناسلی جدا شده و بعضی نیز سبب بیماری می‌شوند:

Bacterium	chlamydia trachomatis	ureaplasma urealyticum
	Streptococcus hemolytis-β	Enterococcus faecalis
	Clostridium sporogenes	syphilis
	mycoplasma hominis	Bacillus pumilus
	Serratia marcescens subsp marcescens	neisseria gonorrhoeae
	Salmonella enterica subsp enterica	Pseudomonas aeruginosa
	Staphylococcus aureus subsp.aureus	Micrococcus luteus

	Escherichia coli	
Virus	herpes simplex virus	
Fungus	Candida albicans	monilia albican
Protozoan	trichomonas vaginalis	

ارزیابی کلینیکال

حساسیت و اختصاصیت کلینیکال

برای تعیین حساسیت و اختصاصیت کلینیکال از ۲۰۰ نمونه مثبت و ۲۰۰ نمونه منفی استفاده شد که نتایج در جدول زیر نشان‌داده‌شده است:

Target	Sensitivity	Specificity
HPV16	96%	**100%**
HPV6 or HPV11	97%	**100%**
HPV18	94.5%	**100%**
HPV31 or HPV35	92%	**98%**
HPV33	93%	**98%**
HPV39	98%	**92%**
HPV45	90%	**97%**
HPV51	90%	**96%**
HPV52	93%	**98%**
HPV56	90%	**96%**
HPV58	93%	**98%**
HPV59	90%	**97%**
HPV66	90%	**96%**
HPV67	93%	**98%**
HPV68	91%	**98%**

پشتیبانی فنی

برای پشتیبانی فنی لطفا با تلفن های شرکت تماس حاصل فرمایید .

نشانه‌ها

برای مصارف پژوهشی	Research Use Only	
کد کالا	Catalog Number	
شماره بچ تولید شده	Batch Number	
محدودیت دمایی	Temprature Limitation	
مطالعه دستورالعمل	Concult Instructon For Use	
تعداد تست	Content sufficent for <n> tets	
تاریخ انقضا	Use by	
آدرس	Manufacturer	

اطلاعات تماس

شرکت فناوری بن یاخته -گروه سین مورو

دفتر مرکزی : تهران، سعادت آباد، میدان فرهنگ، بلوار ۲۴ متری سعادت آباد، خیابان حیدرنیا (دوم شرقی)، پلاک ۹، شرکت فناوری بن یاخته

کد پستی : ۱۹۹۷۷۷۵۵۵۵ تلفن : ۲۲۰۸۲۱۲۰ پشتیبان فنی : ۰۹۳۰۱۸۲۱۶۰۱

تلفن های تماس : ۰۲۱۲۲۰۸۲۱۲۰

Web Site: www.Senmurv.co Email: info@senmurv.ir