

نام محصول: کیت RUO تشخیص HPV بر اساس RT-PCR (DNABioTech HPV Detection Real-Time PCR Based)

شماره کاتالوگ: DB4018 تعداد: ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ تستی

ردیف	توضیح کیت	تایپهای شناسایی کننده	Sub Cat#
1	۴ ویاله بدون Low Risk	۱۴ تایپ High Risk	DB1018-4V
2	۴ ویاله با Low Risk ۶ و ۱۱	۱۴ تایپ High Risk و ۲ تایپ ۶ و ۱۱	DB1018-4V+
3	۶ ویاله	۱۴ تایپ High Risk و ۱۱ تایپ Low Risk	DB1018-6V
4	۸ ویاله (به زودی)	۱۴ تایپ High Risk و ۱۵ تایپ Low Risk	DB1018-8V

شرح کیت

این کیت بر اساس TaqMan RT-PCR ساخته شده و پس از یک سال کنترل کیفی مستمر و انجام تعداد بیش از ۴۰۰۰ تست به بازار عرضه شده است. این محصول برای تشخیص در شرایط آزمایشگاهی تهیه شده و برای تشخیص 14 نوع پرخطر ویروس پاپیلومای انسانی HPV با ریسک بالا شامل انواع 16، 18، 31، 33، 35، 39، 45، 51، 52، 56، 58، 59، 66 و 68 به همراه تعدادی تایپ با ریسک پایین (با توجه به نوع کیت انتخابی) در نمونه های سواب دهانه رحم (Cervical)، آلت تناسلی و منی مردان، واژن، زگیل، نمونه دهانی و بافت پارافینه طراحی شده و نشانه ای برای تشخیص عفونت توسط این پاتوژن است.

نتایج تشخیصی به دست آمده توسط این محصول باید همراه با سایر داده های بالینی یا آزمایشگاهی و توسط پزشک تفسیر شوند.

اساس و دامنه کاربرد

تشخیص توسط واکنش زنجیرهای پلیمرز بر اساس تکثیر مناطق خاص ژنوم میباشد. در واکنش Real-Time PCR محصول تکثیر شده از طریق فلوروسنت مربوطه شناسایی میشوند.

مشاهده شدت فلوروسنت در حین واکنش RTPCR تشخیص محصولات در حال تکثیر را بدون نیاز به بازکردن مجدد لوله های واکنش پس از انجام ممکن میسازد. در این کیت ژنوتایپهای HPV به صورتی که در جداول زیر آمده است در چهار، شش و هشت ویال قابل تفکیک میباشد:

Cat#: DB4018-4V

	Green (Fam)	Yellow (Hex)	Orange (Rox)	Red (Cy5)
HR1 Mix	16	18	IC	66
HR2 Mix	35	39	IC	51
HR3 Mix	31	33	68	45
HR4 Mix	52	56	59	58

Cat#: DB4018-4V+

	Green (Fam)	Yellow (Hex)	Orange (Rox)	Red (Cy5)
HR1 Mix	16	18	IC	66
HR2 Mix	35	39	6/11	51
HR3 Mix	31	33	68	45
HR4 Mix	52	56	59	58

Cat#: DB4018-6V

	Green (Fam)	Yellow (Hex)	Orange (Rox)	Red (Cy5)
HR1 Mix	16	18	1C	66
HR2 Mix	35	39	67	51
HR3 Mix	31	33	68	45
HR4 Mix	52	56	59	58
LR5 Mix	82	53	26	73
LR6 Mix	40/42	43/44	6	11

محتویات کیت ها

Cat#: DB4018-4V and DB4018-4V+:

Title	25 Tests	50 Tests	100 Tests
	Volume /Vial	Volume/Vial	Volume/Vial
HPV Prob Mix 1	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 2	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 3	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 4	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
Master Mix	1 ml	500 µl/tube × 4	1ml/tube×4
Positive Control	200 µl	200 µl	200 µl
NTC	200 µl	200 µl	200 µl

Cat#: DB4018-6V:

Title	25 Tests	50 Tests	100 Tests
	Volume /Vial	Volume/Vial	Volume/Vial
HPV Prob Mix 1	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 2	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 3	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 4	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 5	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
HPV Prob Mix 6	125 µl/tube × 1	125 µl/tube × 2	125 µl/tube × 4
Master Mix	1.5 ml	1 ml/tube × 3	1ml/tube × 6
Positive Control	200 µl	200 µl	200 µl
NTC	200 µl	200 µl	200 µl

نگهداری و انتقال کیت

- کلیه محتویات این کیت باید در دمای 20- درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری گردد.
- این کیت نیاز به حمل بر روی آیس پک (یا یخ خشک برای ارسال شهرستان) دارد.
- همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همانطور که روی برجسب بسته بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص شده پایدار هستند
- از ذوب و انجماد متعدد خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و در نتیجه عدم کارایی کیت میشود.
- معرفها را قبل از استفاده در دمای اتاق ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله ها را به طور مختصر اسپین کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به طور یکنواخت مخلوط شده اند .

کنترلها

۱. نمونه بیمار: از محتویات اسید نوکلئیک حاصل از استخراج DNA استفاده شود.
۲. کنترل منفی: همواره یک نمونه کنترل منفی حاوی آب بجای نمونه استفاده شود.
۳. کنترل مثبت: از کنترل مثبت کیت به جای نمونه در یک واکنش استفاده شود.

خالص سازی نوکلئیک اسید

جداسازی اسید نوکلئیک باید توسط کیت‌های جداسازی موجود در بازار مطابق پروتکل‌های جداسازی مواد بالینی خاص انجام شود. از آنجا که بیشترین کنترل کیفیها این محصول با کیت‌های استخراج ستونی و دستگاهی DNABioTech بوده است، لذا استفاده از همین برند توصیه میگردد.

مواد نمونه باید از نمونه‌ی استاندارد و حاوی تعداد مکفی سلول استخراج شده باشد.

آماده سازی و روش انجام تست

پس از ذوب شدن ویال‌های حاوی بافر واکنش، پرایمر پروب و کنترل مثبت را به آرامی ورتکس و اسپین نمایید و مانند جدول زیر (روی یخ یا کول باکس) عمل نمایید:

Reaction Setup	Volume
HPV Prob Mixes	5 μ l
HPV Master Mixes	10 μ l
Sample or Control	10 μ l
Final volume	25 μ l

ویال ها را ببندید، آنها را داخل دستگاه قرار دهید و اجازه دهید مطابق مشخصات برنامه قید شده در جدول زیر واکنش انجام شوند. هنگام استفاده از کنترل مثبت یا مواد بالینی بسیار مراقب باشید.

	Temperature	Hold	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	10 min	1
Denaturation	95 °C	5 sec	5
Annealing	60°C	25 sec	
Extension	72°C	15 sec	
Denaturation	95 °C	5 sec	40
Annealing and Acquisition on Channel Green, Orange, Red and Yellow	60°C	25 sec	
Extension	72°C	15 sec	

نکته ۱: بهتر است از هودهای جداگانه برای اضافه کردن مستر واکنش و نمونه های بیمار استفاده کرد و همچنین در نظر داشته باشید که در ویال کنترل مثبت را تنها در محل آماده سازی مستر واکنش و فضای تمیز باز کنید .

نکته ۲: در هر بار انجام تست یک لوله به عنوان NTC باید گذاشته شود. در NTC به جای نمونه استخراج شده از آب استفاده میشود که برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد .

تفسیر نتایج به دست آمده

۱. در ۴ کانال FAM و HEX و TEX و CY5 درصد حذف داده های پرت بر ۵٪ آستانه را در بازه ی مناسب قرار دهید و برای تفسیر نتایج، مطابق جدول عمل کنید:

	Green	Yellow	Orange	Red	Result
HR1 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV16
	-	+	-	-	Pos: HPV18
	-	-	IC	-	Beta-globin (IC)
	-	-	-	+	Pos: HPV66
HR2 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV35
	-	+	-	-	Pos: HPV39
	-	-	+	-	DB40184V: IC DB40184V+: Pos: HPV6/11 DB40186V: HPV67
	-	-	-	+	Pos: HPV51
HR3 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV31
	-	+	-	-	Pos: HPV33
	-	-	+	-	Pos: HPV68
	-	-	-	+	Pos: HPV45
HR4 Mix	+	-	-	-	Pos: HPV52
	-	+	-	-	Pos: HPV56
	-	-	+	-	Pos: HPV59
	-	-	-	+	Pos: HPV58
LR mix5	+	-	-	-	Pos: HPV82
	-	+	-	-	Pos: HPV53
	-	-	+	-	Pos: HPV26
	-	-	-	+	Pos: HPV73
LR mix6	+	-	-	-	Pos: HPV40/42
	-	+	-	-	Pos: HPV43/44
	-	-	+	-	Pos: HPV6
	-	-	-	+	Pos: HPV11

نکات آنالیز نتایج

۱. نمونه زمانی مثبت میشود که دارای شروط زیر باشد:
(الف) دارای منحنی سیگموئیدی و فاز لگاریتمی باشد.
 - (ب) Ct کمتر از 40 برای ژنوتیپ های 16 و 18 و Ct کمتر از 35 برای سایر ژنوتیپها
 ۲. زمانی که منحنی سیگموئیدی نباشد جواب نمونه منفی خواهد بود.
 ۳. نمونه در میکس 1 باید در کانال نارنجی که IC است، مثبت باشد.
- هرکدام از این شرایط برقرار نباشد، جواب از اعتبار کافی برخوردار نبوده و باید آزمایش دوباره تکرار شود.
- باتوجه به این موارد نتیجه منفی یک نمونه مستلزم داشتن میکس 1 مثبت در کانال نارنجی و جواب منفی برای بقیه میکسها در کانالهای دیگر است و نتیجه مثبت نیز نیازمند مثبت بودن IC با Ct حدود 20 تا 30 است.

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 صفحه بعد نشان داده شده 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%

اطلاعات تماس:

آدرس: تهران، پل گیشا، دانشگاه تربیت مدرس، پارک علم و فناوری، ساختمان بنیان، طبقه منفی یک، شتابدهنده دیبا (DNABioTech)

تلفن: ۰۲۱۸۸۲۲۰۳۱۹ / ۰۹۱۲۸۳۸۲۹۱۵

ایمیل: dnabioTechco@gmail.com

واتس اپ سفارش: ۰۹۰۲۲۳۸۲۹۱۵