

AVI، انتروویروس D۶۸ است. تجزیه و تحلیل Real-time PCR برای حضور این عوامل در دو تیوب انجام می شود که دو عامل در کانال فلورسنت جداگانه شناسایی می شود. قطعه ای از ژن انسانی (RNase P) در دو تیوب واکنش به عنوان کنترل داخلی استفاده می شود. بنابراین، استفاده از یک کنترل داخلی نه تنها نظارت بر مراحل آزمایش (استخراج DNA و تقویت Real-time PCR) بلکه ارزیابی کفایت نمونه برداری و ذخیره سازی مواد بالینی را ممکن می سازد.

### محتویات کیت:

#### جدول ۱: معرف های کیت

| معرف                             | برچسب                 | ۲۴ تستی     | ۴۸ تستی         | ۹۶ تستی         |
|----------------------------------|-----------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| مخلوط واکنش                      | MVMP-۱                | ۳۶۰ µl/Vial | ۲ x ۳۶۰ µl/Vial | ۴ x ۳۶۰ µl/Vial |
| مننژیت ویروسی ۱-<br>مخلوط واکنش  | MVMP-۲                | ۳۳۶ µl/Vial | ۲ x ۳۳۶ µl/Vial | ۴ x ۳۳۶ µl/Vial |
| مننژیت ویروسی ۲-<br>مخلوط آنزیمی | RT Enzyme             | ۲۴ µl/Vial  | ۲ x ۲۴ µl/Vial  | ۴ x ۲۴ µl/Vial  |
| کنترل منفی                       | Negative Control (NC) | ۱۰۰ µl/Vial | ۲ x ۱۰۰ µl/Vial | ۴ x ۱۰۰ µl/Vial |
| کنترل مثبت                       | Positive Control (PC) | ۱۰۰ µl/Vial | ۲ x ۱۰۰ µl/Vial | ۴ x ۱۰۰ µl/Vial |

### مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود

#### نیست:

۱. انواع دستگاه های آزمایشگاهی شامل:

۱. یخچال و فریزر ۲۰- درجه آزمایشگاهی

۲. هود زیستی کلاس II یا PCR Work station

۳. سمپلرهای متغیر

۴. میکروسانتریفیوژ

۵. میکسر رومیزی

۶. دستگاه ارزیابی و کالبر Real-time PCR با

حداقل ۳ کانال HEX/VIC/HEX (زرد)،

ROX/Texas ۶۷۰ Quasar/CY۵ (قرمز) یا نارنجی (Red)

#### ۲. موارد مصرفی شامل:

۱. کیت استخراج DNA و RNA ویروسی

۲. نوک سمپلر (استریل فیلتر دار ترجیح داده می شود)

۳. میکروتیوب عاری از RNase و DNase

۳. مواد مصرفی: دستکش یکبار مصرف فاقد

پودر، روپوش های آزمایشگاهی، خودکار علامت

گذاری آزمایشگاهی و رول دستمال کاغذی

### عنوان محصول:

کیت شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی به

روش Real time PCR

### معرفی محصول:

از شایعترین بیماریهای سیستم اعصاب مرکزی بخصوص در کودکان و نوزادان، مننژیت است که توسط عوامل مختلف ویروسی، باکتریایی، انگلی و قارچی ایجاد میشود. مننژیت التهاب مننژ است. مننژ غشای محافظی است که مغز و نخاع را پوشش می دهد. از شایعترین عوامل ویروسی ایجادکننده مننژیت ویروسی یا آسپتیک نیز می توان به انتروویروس ها، ویروس اوربون و هرپس سیمپلکس ها اشاره کرد. اکثر افراد بدون درمان به خودی خود بهبود می یابند. با این حال، هر کسی که علائم مننژیت را دارد باید فوراً به پزشک مراجعه کند زیرا هر نوع مننژیت می تواند جدی باشد. از جمله این علائم شامل تب، سردرد، حالت تهوع و سفتی گردن می باشد. از طرفی دیگر برخی از افراد در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به این بیماری هستند، از جمله کودکان کمتر از ۵ سال و افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف ناشی از بیماری ها، داروها (مانند شیمی درمانی) و پیوند عضو یا مغز استخوان، نوزادان کمتر از یک ماه و افرادی که سیستم ایمنی ضعیفی دارند نیز بیشتر در معرض ابتلا به بیماری هستند. بنابراین تشخیص عوامل مننژیت در گروه های پرخطر، بسیار حیاتی است. کیت آزمایشگاهی شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی در نمونه های بالینی مایع مغزی نخاعی طراحی گردیده است.

### اساس آزمایش:

این کیت بر مبنای روش Real time PCR Multiplex با استفاده از پروب مبتنی بر تکثیر همزمان (Multiplex PCR) قطعات DNA ویروس هرپس سیمپلکس ۱، ویروس هرپس سیمپلکس ۲، RNA ویروس اوربون و انتروویروس، انتروویروس

## دستگاه های سازگار با کیت:

این کیت بر روی تمامی دستگاه های Real time PCR HEX/VIC/HEX (زرد)، سبز (FAM)، Quasar/CY5 ۶۰ (قرمز) یا Texas Red /ROX/ (نارنجی) قابل استفاده است.

## نگهداری کیت:

۱. کیت پس از تحویل باید در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و در تاریکی نگهداری شوند. حفظ دما در مدت زمان نگهداری محصول الزامی است.

۲. با افزایش دفعات ذوب کردن مجدد مواد، از حساسیت کیت کاسته می شود. برای کارایی هر چه بهتر کیت، از ذوب و یخ زدگی چندین باره محلول ها (بیش از ۳ مرتبه) خودداری شود.

۳. کلیه معرف ها و اجزاء کیت تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه کیت به شرط نگهداری در دمای مذکور پایدار هستند.

۴. اجزاء کیت ها با سری ساخت متفاوت را با یکدیگر مخلوط نسازید و از جابه جایی درب معرف ها بپرهیزید.

## جمع آوری و آماده سازی نمونه:

۱. نوع نمونه: مایع مغزی-نخاعی (CSF)

۲. شرایط نمونه گیری: جمع آوری بر اساس شرایط و نوع نمونه طبق پروتکل های موجود انجام گیرد.

۳. نگهداری نمونه: نمونه دریافت شده می تواند بلافاصله برای آزمایش مورد استفاده قرار گیرد. در صورتی که انجام آزمایش در همان روز جمع آوری نمونه امکان پذیر نباشد، می توان برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری کرد. برای مدت طولانی تر نمونه ها باید در ۲۰C- سانتیگراد نگهداری شود.

۴. از ذوب و انجماد مکرر نمونه ها اجتناب کنید. نمونه های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی، اما به طور کامل مخلوط شوند تا کاملاً یکنواخت و همگن گردند.

## احتیاطات و هشدارها:

۱. کیت فقط برای تشخیص آزمایشگاهی کاربرد دارد. از نتایج این کیت به تنهایی جهت

تشخیص تأیید یا رد عفونت نباید استفاده نمود. ۲. پیش از استفاده از کیت، ویال ها رو از لحاظ نشتی یا آسیب بررسی کنید.

۳. کیت را هنگام نگهداری و حین حمل و نقل به حالت ایستاده قرار دهید و از تماس تمام معرف ها با نور مستقیم جلوگیری شود.

۴. در طی انجام مراحل استخراج یا آماده سازی مخلوط واکنش، دستکش های خود را بین هر مرحله مرتب تعویض کنید تا از ایجاد آلودگی های کاذب در روند آزمایش جلوگیری شود. مراحل کار باید طبق شرایط استاندارد آزمایشگاه در پیشگیری از ایجاد آلودگی و عفونت انجام گیرد و همچنین شرایط دفع زباله های عفونی این تست به مانند دیگر عوامل بیماری زا می باشد.

۵. تمامی وسایل که در آزمایشگاه PCR مورد استفاده قرار می گیرند باید قبل و بعد از انجام تست با هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ و الکل ۷۰٪ ضد عفونی شوند و از جابه جایی این وسایل بین بخش های مختلف پرهیز کنید. در واقع هر بخش باید وسایل، مواد و مخصوصاً سمپلر مختص به خود را داشته باشد. در زمان انجام تست از نوک سمپلر فیلتر دار استفاده شود.

۶. کیت حاوی کنترل مثبت می باشد برای جلوگیری از ایجاد آلودگی به دیگر اجزای کیت، بهتر است آنرا از دیگر اجزای کیت جدا و در یک جعبه دیگر قرار دهید و در مواقع استفاده احتیاط کنید.

## آماده سازی معرف ها:

### نکات مهم در انجام تست:

۱. قبل از شروع کار اطمینان حاصل نمایید که دمای کلیه اجزاء کیت به دمای اتاق رسیده باشد. ۲. معرف ها و نمونه ها را قبل از آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.

۳. فرایند پیپتینگ از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. پیپتینگ ناکافی باعث تغییر غلظت مناسب مسترمیکس و پرایمر و پروب ها خواهد شد.

۴. در هر بار انجام آزمایش کنترل مثبت کیت باید استفاده شود تا کارائی واکنش مورد ارزیابی قرار گیرد.

۵. در کلیه مراحل انجام آزمایش و متعاقب هر

داخل بسته بندی خارج کرده و اجازه دهید تا در دمای اتاق ذوب شوند. مراحل مطابق با مراحل زیر انجام می شود:

۱- در کلیه آزمایشات برای هر بیمار ۲ میکروتیوب همراه با میکروتیوب های کنترل مثبت و منفی و NTC نام گذاری نمائید.

۲- جهت انجام آزمایش، مواد و واکنش-گر را روی یخ قرار دهید.

۳- ۱۵ و ۱۴ میکرولیتر به ترتیب از VMP2M، VMPIM به تمامی میکروتیوب های نام گذاری شده اضافه کنید. یک میکرولیتر از تیوب RT Enzyme به تمامی میکروتیوب های نام گذاری شده VMP2M اضافه کنید.

۴- ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل را به میکروتیوب NTC اضافه کنید.

۵- ۵ میکرولیتر کنترل منفی به میکروتیوب هایی که برای آن نام گذاری شده است اضافه کنید.

۶- ۵ میکرولیتر از کنترل مثبت در یک فضای دور از محوطه آماده سازی سایر مخلوطهای واکنش به تیوب واکنش کنترل مثبت اضافه کنید.

۷- ۵ میکرولیتر از اسیدنوکلیک نمونه بیماران را به هرکدام از میکروتیوب های اول و دوم که برای آنها نام گذاری شده است اضافه کنید.

۸- محتویات میکروتیوب ها را خوب مخلوط کرده و یا Spin کوتاه انجام دهید.

## جدول ۲: مقادیر واکنش

| میزان مورد نیاز برای هر تست | مواد مورد نیاز برای هر تست               |
|-----------------------------|------------------------------------------|
| ۱۵ میکرولیتر                | مخلوط واکنش مننژیت ویروسی-۱              |
| ۱۴ میکرولیتر                | مخلوط واکنش مننژیت ویروسی-۲              |
| ۱ میکرولیتر                 | مخلوط آنزیمی                             |
| ۵ میکرولیتر                 | الگو (کنترل منفی، DNA بیمار، کنترل مثبت) |
| ۲۰ میکرولیتر                | حجم نهائی واکنش                          |

## انجام واکنش Real-time PCR:

تیوب های واکنش را در دستگاه Real time PCR قرار دهید و برنامه دمایی زیر را اجرا کنید. مشخصات تیوب های واکنش و نوع خوانش فلورسنت در هر تیوب را در جدول زیر مشاهده می کنید.

مرحله پیتینگ، تیوب ها از نظر وجود حباب بررسی شوند. در صورت وجود حباب با ضربه آهسته به تیوب از محیط خارج شوند.

۶. هر نوع نمونه یا ماده کنترلی که حاوی رنگ باشد، با این کیت سازگار نبوده و آزمایش بر روی آنها ممکن است منجر به نتایج کاذب شود.

## نکات مهم در انجام تست:

۱. قبل از شروع کار اطمینان حاصل نمایید که دمای کلیه اجزاء کیت به دمای اتاق رسیده باشد.

۲. معرف ها و نمونه ها را قبل از آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.

۳. بهتر است کنترل ها و نمونه ها را به صورت دوتایی (Duplicate) آزمایش کنید و میانگین CT جهت محاسبه نتایج مورد استفاده قرار گیرد.

۴. فرآیند پیتینگ از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. پیتینگ ناکافی باعث تغییر غلظت مناسب مسترمیکس و پرایمر و پروب ها خواهد شد.

۵. در هر بار انجام آزمایش کنترل مثبت کیت باید استفاده شود تا کارائی واکنش مورد ارزیابی قرار گیرد.

۶. در کلیه مراحل انجام آزمایش و متعاقب هر مرحله پیتینگ، تیوب ها از نظر وجود حباب بررسی شوند. در صورت وجود حباب با ضربه آهسته به تیوب از محیط خارج شوند.

۷. هر نوع نمونه یا ماده کنترلی که حاوی رنگ باشد، با این کیت سازگار نبوده و آزمایش بر روی آنها ممکن است منجر به نتایج کاذب شود.

## روش انجام آزمایش:

### آماده سازی قبل از واکنش Real-time PCR:

با استفاده از کیت های تخلیص ژنوم ویروس، نسبت به استخراج RNA ویروسی، از نمونه بالینی اقدام شود. لازم به ذکر است این محصول در بردارنده کیت استخراج RNA نیست ولی با بیشتر کیت های تخلیص اسید نوکلئیک مانند Roche همخوانی دارد.

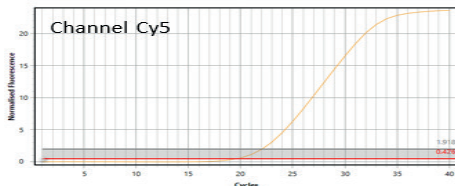
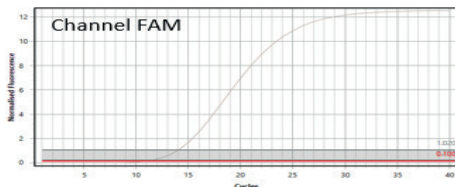
### آماده سازی مخلوط واکنش Real-time PCR

#### کیفی تک مرحله ای:

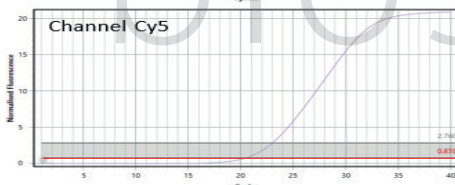
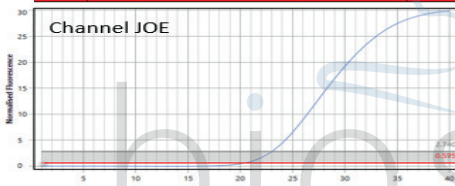
اسید نوکلئیک استخراج شده مستقیماً در واکنش qPCR مورد استفاده قرار می گیرد. ابتدا در محل مناسب و استریل، محتویات کیت را از

### تصویر ۱: نتایج تفسیری تیوب واکنش در کیت

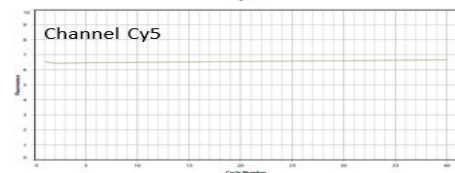
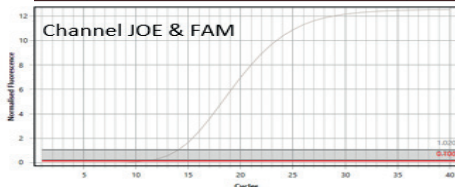
| نتیجه | تفسیر                                | جواب |
|-------|--------------------------------------|------|
| معتبر | VMPI: هرپس سیمپلکس ۱<br>VMP2: اوربون | مثبت |



| نتیجه | تفسیر                                    | جواب |
|-------|------------------------------------------|------|
| معتبر | VMPI: هرپس سیمپلکس ۱<br>VMP2: انتروویروس | مثبت |



| نتیجه | تفسیر                                                 | جواب |
|-------|-------------------------------------------------------|------|
| معتبر | VMPI: هرپس سیمپلکس ۱ و ۲<br>VMP2: اوربون و انتروویروس | مثبت |



### جدول ۳: مشخصات تیوب های واکنش و نوع خوانش تارگت های کیت

| تارگت ها     | VMP1                         | VMP2                 |
|--------------|------------------------------|----------------------|
| عوامل مننژیت | کانال HEX:                   | کانال FAM:           |
| ویروس        | هرپس سیمپلکس ۱<br>کانال FAM: | اوربون<br>کانال HEX: |
|              | هرپس سیمپلکس ۲               | انتروویروس           |
| کنترل داخلی  | ROX OR CY5                   | ROX OR CY5           |

پس از انجام تنظیمات و انتخاب کانال خوانش، فایل را ذخیره کرده و دستگاه را با برنامه دمائی و زمانی زیر راه اندازی کنید.

### جدول ۴: مشخصات واکنش حرارتی

| مرحله                 | دما (°C) | زمان   | تعداد سیکل |
|-----------------------|----------|--------|------------|
| Reverse Transcription | ۵۰       | ۳۰ min | ۱          |
| Initial Denaturation  | ۹۵       | ۵ min  | ۱          |
| Annealing/ Extension  | ۹۵       | ۲۰ sec | ۴۰         |
| (FAM/HEX/CY5 or ROX)  | ۶۰*      | ۴۰ sec | ۴۰         |

\* مرحله ای که خوانش انجام شود.

### آنالیز داده ها و گزارش آنها:

مشخصات تیوب های واکنش و نوع خوانش فلورسنت در هر تیوب را در جدول زیر مشاهده می کنید. نتایج با استفاده از نرم افزار دستگاه PCR Time Real، به واسطه عبور منحنی فلورسانس از خط آستانه یا Threshold و بر اساس دستورالعمل های دستگاه تفسیر می شوند.

### محاسبه نتایج:

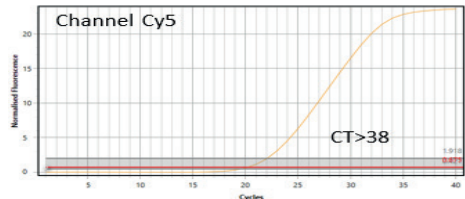
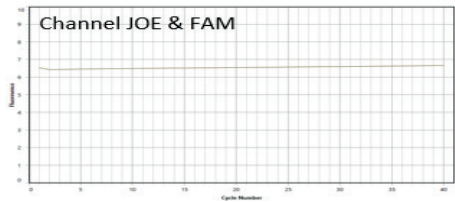
آنالیز نتایج با استفاده از میزان CT اندازه گیری شده برای هر هدف به صورت منفی و مثبت تأیید می شود. در صورتی که میزان CT برای هر هدف طی ۴۰ سیکل کمتر یا مساوی ۴۰ باشد مثبت خوانده می شود و هنگامی که میزان CT بیشتر از ۴۰ باشد منفی خوانده می شود.

تفسیر تمامی کنترل های آزمایش طبق جدول زیر باید پیش از تفسیر نتایج بیمار، بررسی شوند. اگر کنترل ها مورد تأیید نیستند، نباید نتایج آزمایش بیماران تفسیر گردد. در صورتیکه کنترل ها عملکرد مورد انتظار را آن گونه که شرح داده شد نشان نمی دهند، ممکن است نحوه انجام آن نادرست باشد یا خرابی در معرف یا نقص در تجهیزات رخ داده باشد. در این صورت، آزمایش را تایید نکرده و مجدداً تکرار شود.

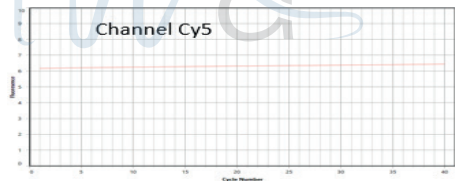
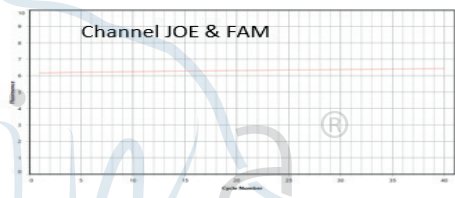
## جدول ۵: تفسیر نتایج کیت

| نتیجه و تفسیر                                                    | مورد انتظار و معیتر                                                                                                                                                                                                                                                                        | فازها      |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| معتبر                                                            | عدم حضور منحنی تکثیر<br>سیگموئیدی در کانال FAM و<br>HEX یا CT کمتر از ۴۰ و وجود<br>منحنی تکثیر در کانال Cy5 در<br>CT کمتر از ۳۵.                                                                                                                                                           | کنترل منفی |
| معتبر                                                            | عدم حضور منحنی تکثیر<br>سیگموئیدی در کانال FAM و<br>HEX و Cy5 یا CT کمتر از ۴۰.                                                                                                                                                                                                            | کنترل NTC  |
| معتبر                                                            | حضور منحنی تکثیر<br>سیگموئیدی در کانال FAM<br>نشان دهنده HSV-۲ و اورپون،<br>حضور منحنی تکثیر<br>سیگموئیدی در کانال نشان<br>دهنده HSV-۱ و انتروویروس و<br>منحنی تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال Cy5<br>نتیجه CT باید برای کانال سبز<br>۲۱-۲۳ و برای کانال زرد ۲۴-۲۶ و<br>کانال قرمز ۲۸-۲۶ باشد. | کنترل مثبت |
| مثبت                                                             | حضور تکثیر در کانال FAM<br>نشانده مثبت بودن نمونه از<br>لحاظ HSV-۲ و حضور تکثیر در<br>کانال HEX نشانده مثبت بودن<br>نمونه از لحاظ HSV-۱، منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5 در CT کمتر<br>از ۳۵.                                                                                                  | VMP1       |
| مثبت                                                             | حضور تکثیر در کانال FAM<br>نشانده مثبت بودن نمونه از<br>لحاظ اورپون و حضور تکثیر در<br>کانال HEX نشانده مثبت بودن<br>نمونه از لحاظ انتروویروس،<br>منحنی تکثیر در کانال Cy5 در<br>CT کمتر از ۳۵.                                                                                            | VMP۲       |
| مثبت                                                             | حضور تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال FAM یا HEX و منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5 در CT کمتر<br>از ۳۵.                                                                                                                                                                                             | VMP        |
| مثبت                                                             | حضور تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال FAM یا HEX و عدم منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5 در CT کمتر<br>از ۳۵.                                                                                                                                                                                         | VMP        |
| تکرار استخراج و در صورت<br>تکرار همین نتیجه: مثبت                | حضور تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال FAM یا HEX و منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5 در CT بالاتر<br>از ۳۵.                                                                                                                                                                                           | VMP        |
| تکرار استخراج و در صورت<br>تکرار همین نتیجه:<br>تکرار نمونه گیری | عدم تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال FAM یا HEX و عدم منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5.                                                                                                                                                                                                              | VMP        |
| منفی                                                             | عدم تکثیر سیگموئیدی در<br>کانال FAM یا HEX و منحنی<br>تکثیر در کانال Cy5 در CT پائین<br>تر از ۳۵.                                                                                                                                                                                          | VMP        |

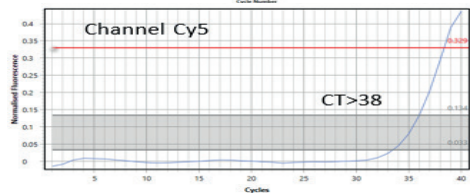
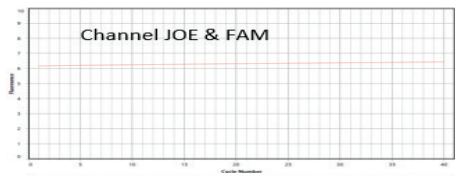
| جواب | تفسیر                                                 | نتیجه |
|------|-------------------------------------------------------|-------|
| منفی | VMP1: هرپس سیمپلکس ۱ و ۲<br>VMP۲: اورپون و انتروویروس | معتبر |



| جواب  | تفسیر                                                 | نتیجه   |
|-------|-------------------------------------------------------|---------|
| تکرار | VMP1: هرپس سیمپلکس ۱ و ۲<br>VMP۲: اورپون و انتروویروس | نامعتبر |



| جواب  | تفسیر                                                 | نتیجه   |
|-------|-------------------------------------------------------|---------|
| تکرار | VMP1: هرپس سیمپلکس ۱ و ۲<br>VMP۲: اورپون و انتروویروس | نامعتبر |



## کنترل کیفی:

در هر کیت علاوه بر مسترمیکس دو میکروتیوب شامل کنترل منفی و مثبت وجود دارد که مشخصات هر یک بر روی برچسب ویال درج شده است. علاوه بر کنترل های داخل کیت، کارشناس آزمایشگاه می تواند از نمونه های مثبت که در خود آزمایشگاه تهیه شده نیز استفاده نماید.

## خصوصیات اجرایی کیت:

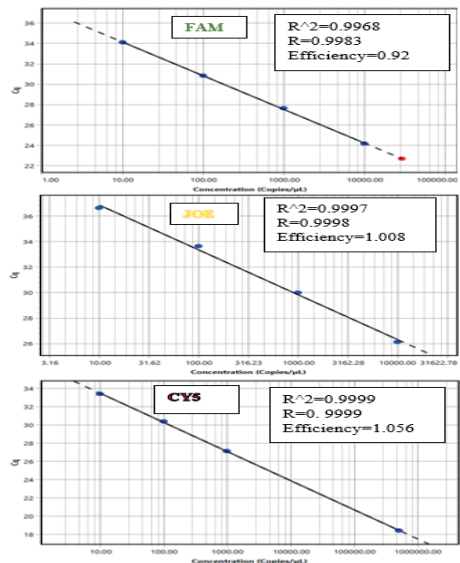
۱- حد پایینی اندازه گیری (Lower limit of measurement):

حد آشکار سازی (Limit-of-detection: LOD) مطابق با راهنمای EP۷-A<sup>۲</sup> مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) بدست آمد. برای تعیین حد آشکار سازی کیفی ۲۰ اندازه گیری تکراری بر روی یک نمونه با CT پائین (CT بالاتر از ۳۰) که نتیجه آن به روش مستقل دیگری تعیین شده بود، انجام شد. نهایتاً LOD شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی به روش Real-time PCR معادل ۳۸:CT می باشد.

## ۲- رنج دینامیک (Dynamic Range):

رنج دینامیک و رنج خطی کیت موجود برابر با ۹۰ تا ۱۱۰ می باشد. و ضریب همبستگی واکنش (R<sup>۲</sup>) در حدود ۰/۹۹۹ می باشد. همچنین بازده (Efficiency) واکنش در کانال های مختلف برابر با ۹۸٪ تا ۹۹٪ است.

تصویر ۱: نتایج خطی بودن کانالهای مختلف کیت



## ۳- دقت (Precision):

دقت روش با استفاده از کلیه معرف های کیت شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی به روش Real-time PCR و نمونه های تهیه شده از نمونه های بیمار مثبت DNA هرپس سیمپلکس ۱، ویروس هرپس سیمپلکس ۲، RNA ویروس اوربیون و انتروویروس در سه غلظت مختلف مطابق با راهنمای EP۷-A<sup>۲</sup> مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) بدست آمد.

## ۴- اختصاصیت (Specificity):

ارزیابی اختصاصیت مطابق با راهنمای EP۷-A<sup>۲</sup> مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI)، جهت تعیین واکنش متقاطع (cross reaction) کیت شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی به روش Real-time PCR با سایر DNA ویروس ها مختلف شامل سیتومگالوویروس و ایشتن بار ویروس و DNA باکتری استروپتوکوکوس گروه B و اشرشیاکلی واکنش متقاطع ندارد و اختصاصیت بالینی ۱۰۰ درصد است. همچنین ارزیابی درصد تداخل از ناحیه مداخله گره های گلیول قرمز و لکوسیت انجام و مشخص گردید که تأثیری بر ردیابی DNA ویروس هرپس سیمپلکس ۱، ویروس هرپس سیمپلکس ۲، RNA ویروس اوربیون و انتروویروس ندارد.

## ۵- حساسیت (Sensitivity):

ارزیابی حساسیت مطابق با راهنمای EP۷-A<sup>۲</sup> مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI)، جهت تعیین حساسیت بالینی کیت شناسایی و تمایز عوامل مننژیت ویروسی به روش Real-time PCR فعلی در مقایسه با کیت مستقل دیگر روی ۱۵۰ نمونه بالینی مثبت و ۱۰۰ نمونه منفی از نظر عوامل مننژیت ویروسی مدنظر انجام شد که میزان حساسیت بالینی ۹۷٫۳٪ (۹۵٪ CI: ۹۶٫۷-۱۰۰٪) حاصل شد.

## ۶- پدیده هوک:

در این کیت پدیده هوک تا ۹:CT مشاهده نگردید.

## منابع و مراجع:

1. CLSI. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; approved guideline. 2nd ed. CLSI document EP 17-A2. Pierson-Perry J.F. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2012.
2. CLSI. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; approved guideline. CLSI document EP 05-A3. McEnroe R.J. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2014.
3. CLSI. Interference Testing in clinical chemistry; approved guideline. 2nd ed. CLSI document EP07-A23. McEnroe R.J. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2005.
4. Desirable Specifications for Total Error, Imprecision, and Bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation, <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
5. Kasper D.L. et al. (2015). Harrison's principles of internal medicine. 19th ed. Mc Graw Hill Education.
6. McPherson R.A. et al. (2017). HENRY'S clinical diagnosis and management by laboratory Methods. 23rd ed. (pp. 4-373). Elsevier Inc.
7. Pagana K.D. et al. (2018). Mosby's Manual of diagnostic and Laboratory tests. 6th ed. (pp. 7--435). Elsevier Inc.
8. Rifai Nader. et al. (2018). Clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. (pp. 8-1587) Elsevier Inc.

## جدول نمادها:

|                                                                                     |                                    |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|
|  | Catalog number                     | شماره رفرنس               |
|  | Batch code                         | سری ساخت                  |
|  | In vitro diagnostic medical device | فراورده تشخیصی و بالینی   |
|  | Data of manufacture                | تاریخ تولید               |
|  | Expiry date                        | تاریخ انقضا               |
|  | Temperature limitation             | دمای نگهداری              |
|  | Read instructions before use       | مطالعه بروشور             |
|  | SufficiVMP for n tests             | محتویات برای n تست کافیست |
|  | Caution consult accompanying       | توجه به مدارک همراه       |
|  | documVMPs                          | آدرس شرکت                 |
|  | Manufacturer                       | در جای تاریخ نگهداری شود  |