



جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی



اداره کل تجهیزات پزشکی

شماره پروانه : ۳۲۲۰۰۹۱۱
تاریخ صدور : ۱۴۰۱/۰۹/۳۰
تاریخ آخرین تغییر : ۱۴۰۱/۰۹/۳۰
تاریخ اعتبار : ۱۴۰۲/۰۹/۳۰
پیوست : دارد

پروانه تکمیل و بسته بندی وسیله پزشکی (مشروط - یک ساله)

تولید کننده : دلسا تشخیص آریا
شناسه ملی : ۱۴۰۰۹۹۱۵۲۰۳
نشانی : استان اصفهان - کاشان - اصفهان، کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز رشد فناوری

نام وسیله : SARS-CoV-2 NAT RNA detection
گروه تخصصی : Microbiology Reagents Infectious Immunology

سابقه مجوز : ندارد. طراحی پروب و پرایمر محصول حاضر توسط شرکت انجام می شود.

تعهدات و زمان اجرا : تعهد ارائه گواهی برند و ISO13485:2016 تا زمان انقضا پروانه

تعهدات اجرا نشده : ندارد

تاییدیه CE : ندارد

در اجرای بند ۱۲ ماده ۱ قانون تشکیلات و وظایف وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مصوب ۱۳۶۷/۰۳/۰۳ و تبصره ۲ ماده ۱۴ از قانون مربوط به مقررات امور پزشکی و دارویی و مواد خوردنی و آشامیدنی با اصلاحات و الحاقات بعدی مصوب ۱۳۳۴/۰۳/۲۹ ، این پروانه صرفاً برای وسیله ذکر شده و با موارد قید شده در پیوست آن (در صورت داشتن پیوست) صادر گردیده است. استفاده از وسیله مذکور با توجه به حیطه کاربرد آن و شرایط مندرج در این پروانه مجاز است. در صورت عدم انجام تعهدات به جهت حفظ سلامت جامعه، پروانه تمدید نخواهد شد

مهندس روح اله مزینانی

مدیر کل تجهیزات پزشکی



سازمان غذا و دارو

اداره کل تجهیزات پزشکی



۱) مقدمه

با افزایش شیوع کرونا ویروس جدید SARS-CoV2 در جهان، جهش (موتاسیون)های مختلفی در این ویروس وجود می‌آید که باعث بوجود آمدن واریانت‌های ژنتیکی مختلفی از SARS-CoV2 در مناطق مختلف جغرافیایی می‌شود. اخیراً چندین سویه‌ی جهش یافته از این ویروس بعنوان سویه‌های نگران کننده (Variant of concern) یا VOC مطرح هستند (جدول ۱) که شامل سویه‌های انگلیسی یا آلفا (B.1.1.7)، آفریقای یا بتا (B.1.351)، برزیلی یا گاما (P.1) و هندی یا دلتا (B.1.617) هستند. هر یک از این سویه‌های جهش یافته دارای جهش‌های منحصر بفرد در نواحی مختلفی از ژنوم خود هستند. مهمترین جهش‌های موجود در ژن اسپایک (S) این ویروس که بعنوان Mutation of concern (MOC) مطرح هستند شامل جهش‌های N501Y، E484K و L452R هستند که می‌توانند باعث ایجاد تغییرات ساختاری مهمی در پروتئین اسپایک شوند و از این طریق بر رفتار ویروس اثر بگذارند. شواهد اخیر نشان داده‌اند که این جهش‌های موجود آمده در سویه‌های VOC ممکن است باعث عدم تشخیص ویروس، افزایش عفونت‌زایی ویروس، مقاومت به درمان‌های مبتنی بر آنتی‌بادی مونوکلونال و سرم درمانی و همچنین ایجاد تاثیر احتمالی منفی بر عملکرد واکسن‌ها شوند. شناسایی و مانیتور کردن این سویه‌های نوظهور می‌تواند به تشخیص و کنترل بیماری کووید ۱۹ کمک نماید. ژنوتایپینگ ویروس SARS-CoV2 بر اساس جهش‌های MOC می‌تواند در تشخیص واریانت‌های ژنتیکی مذکور مفید باشد. روش‌های ژنوتایپینگ مختلف به منظور بررسی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) وجود دارند که از آن جمله می‌توان به روش تکمیل ریل تایم پی‌سی‌آر (TaqMan real-time PCR) اشاره نمود. این روش در مقایسه با روش گلد استاندارد (توالی‌یابی DNA)، سریعتر و کم هزینه‌تر می‌باشد.

جدول ۱) سویه‌های جهش یافته‌ی نگران کننده‌ی ویروس SARS-CoV2

سویه	تشخیص برای اولین بار (کشور)	نامگذاری WHO	وضعیت جهش L452R/E484K/N501Y	سایر جهش‌های مهم در ژن S
۱ وحشی	چین (ووهان)	-	- / - / -	-
۲ B.1.1.7	انگلیس	Alpha	- / - / +	Δ69/70, Δ144, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H
۳ B.1.351	آفریقای جنوبی	Beta	- / + / +	D80A, D215G, Δ241/242/243, K417N, D614G, A701V
۴ P.1	ژاپن / برزیل	Gamma	- / + / +	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, H655Y, T1027I
۵ B.1.617	هند	Delta	+ / - / -	E484Q

۲) موارد استفاده

کیت "Delta vSNIp" یک کیت ژنوتایپینگ بر پایه تکنیک TaqMan real-time PCR تک مرحله‌ای است که با استفاده از آن می‌توان به بررسی کیفی وجود یا عدم وجود جهش‌های N501Y، E484K و L452R در نمونه‌های بالینی بدست آمده از افراد مبتلا به بیماری کووید ۱۹ (COVID19) پرداخت. باتوجه به اینکه جهش‌های مذکور در برخی از واریانت‌های SARS-CoV2 وجود دارد (جدول ۱)، کیت حاضر می‌تواند بعنوان یک تست *In vitro* غربالگری مولکولی به منظور افتراق واریانت‌های مختلف SARS-CoV2 در نظر گرفته شود. لازم به ذکر است که حیطه‌ی کاربرد کیت حاضر "صرفاً جهت تحقیقات" می‌باشد و نباید از نتایج آن در موارد تشخیص قطعی بالینی استفاده شود. بعد از غربالگری واریانت‌های ژنتیکی با استفاده از این کیت، برای تایید نهایی نوع واریانت می‌توان از روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی استفاده نمود.

۳) اساس تست

اساس کار کیت حاضر بر پایه‌ی تکنیک TaqMan genotyping است. وضعیت هر کدام از سه جهش مذکور در یک تیوب مجزا بررسی می‌شود. در هر تیوب به منظور بررسی ناحیه‌ی جهش یافته مورد نظر (بعنوان مثال N501Y) از ۲ پروب اختصاصی با ۲ رنگ فلوروسنت (فلووروفور) متفاوت و خاموش کننده (کوئنچر) مربوطه استفاده می‌شود که هر کدام از آن‌ها می‌توانند یک آلل (یک آلل وحشی و یک آلل جهش یافته) را تشخیص دهند. در حین انجام PCR در صورت وجود آلل جهش یافته پروب اختصاصی آن و در صورت وجود آلل طبیعی پروب مربوط به آن متصل می‌شوند و پس از اتصال هریک از پروب‌ها، در اثر فعالیت اگزونوکلازای آنزیم پلیمرز هیدرولیز می‌شوند. بدنبال هیدرولیز پروب، کوئنچر از فلووروفور جدا شده و در نتیجه رنگ‌های فلوروسنت مختلف آزاد می‌شوند که دستگاه Real-time PCR قادر به خوانش و ثبت آن می‌باشد. چنانچه آلل جهش یافته (مثلاً N501Y) وجود داشته باشد پروب اختصاصی آن متصل شده و سپس هیدرولیز شده و رنگ خاص خود (بعنوان مثال رنگ زرد یا HEX) آزاد می‌شود. در صورت وجود آلل وحشی (N501)، پروب اختصاصی آن متصل و هیدرولیز می‌شود و در نتیجه رنگ فلوروسنت دیگر (مثلاً رنگ سبز یا FAM) آزاد می‌شود. در نهایت بعد از پایان واکنش PCR نتایج با استفاده از نرم افزار مربوطه آنالیز می‌شوند. لازم به ذکر است که این شرایط برای جهش E484K برعکس می‌باشد. در صورت وجود آلل وحشی (E484) رنگ زرد (HEX) و در صورت وجود آلل جهش یافته (E484K) رنگ سبز (FAM) آزاد می‌شود.

۶) سایر تجهیزات و مصرفی‌های لازم

توضیحات	تعداد	دستگاه / مصرفی
یکی برای تهیه PCR mix و دیگری برای اضافه کردن RNA ویروسی و کنترل‌ها است.	۲ عدد	ورک استیشن (کابینت PCR)
هر یک ست در زیر هر ورک استیشن قرار داده شود.	۲ ست	ست سمپل با حجم‌های مختلف
هر کدام در زیر هر ورک استیشن قرار داده شود.	۲ عدد	مینی اسپین / ورتکسر
به منظور سانتیفریژ کردن استریپ تیوب‌ها یا پلیت حاوی واکنش PCR قبل از قرار دادن در دستگاه Real-time PCR استفاده می‌شود.	۱ عدد	مینی اسپین یا روتور استریپ خور یا سانتیفریژ پلیت خور
دستگاه دارای قابلیت خوانش در حداقل ۲ کانال FAM و HEX یا معادل طول موج آن‌ها باشد.	۱ عدد	دستگاه Real-time PCR
برای حمل و نگهداری بافرها و نمونه‌های RNA در حین کار استفاده می‌شود.	به تعداد لازم	کول رک (کرایو رک)
بر اساس نوع دستگاه Real-time PCR از نوع سفید یا شفاف استفاده می‌شود.	به تعداد لازم	استریپ تیوب یا پلیت مخصوص Real-time PCR
به منظور تمیز کردن سطوح و تمامی وسایل استفاده می‌شود.	به مقدار لازم	اسپری حاوی محلول از بین برنده نوکلئازها
باید عاری از DNase و RNase باشند.	به تعداد لازم	سر سمپل فیلتر دار در حجم‌های مختلف

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), in COVID19. (2021). Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>
 2. S. J. R. da Silva *et al.*, Clinical and Laboratory Diagnosis of SARS-CoV-2, the Virus Causing COVID-19. *ACS Infectious diseases* 6, 2319 (Sep 11, 2020).
 3. P. Spearman, Diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID19. *Current opinion in pediatrics* 33, 122 (Feb 1, 2021).
 4. H. Wang *et al.*, Multiplex SARS-CoV-2 Genotyping PCR for Population-Level Variant Screening and Epidemiologic Surveillance. *medRxiv*, 2021.04.20.21255480 (2021).
 5. A. P. West *et al.*, Detection and characterization of the SARS-CoV-2 lineage B.1.526 in New York. *bioRxiv*, 2021.02.14.431043 (2021).

۵) محتوای کیت (۵۰ تست)

کیت حاضر شامل ۳ بسته است که هر کدام از بسته‌ها برای بررسی یکی از سه جهش مذکور است. هر کدام از بسته‌ها دارای اجزای زیر می‌باشند:

مقدار	اجزا
۱ تیوب x ۵۰۰ میکرولیتر	2X One-Step Buffer
۱ تیوب x ۵۰۰ میکرولیتر	20X RTase Mix
۱ تیوب x ۱۲۵ میکرولیتر	P&P Mix
۱ تیوب x ۵۰۰ میکرولیتر	Nuclease-Free Water
۱ تیوب x ۵۰ میکرولیتر	Mutation C+ (control)
۱ تیوب x ۵۰ میکرولیتر	Wild-Type C+ (control)

توجه:

- تمامی اجزای کیت در دمای ۱۵- تا ۲۵- درجه سانتیگراد نگهداری شوند.
- تاریخ انقضای کیت بر روی آن درج شده است.
- تا حد امکان از ذوب و فریز شدن اجزای کیت خودداری شود (کمتر از ۳ بار). و در صورت نیاز از هر کدام از اجزا بر اساس نیاز الیکوت تهیه شود.
- محلول P&P Mix حاوی پرایمر و پروب نشاندار شده با مواد فلوروسنت است و تا حد امکان در معرض نور مستقیم قرار نگیرد.
- محلول‌های کنترل مثبت برای ال‌های جهش یافته و وحشی در هر کیت متفاوت می‌باشند.
- حتماً قبل از استفاده از هر کدام از محلول‌های موجود در کیت، ورتکس/ اسپین انجام شود.

۷) ایمنی زیستی

- در حین کار با نمونه‌های بالینی حتماً از وسایل حفاظتی (مثل دستکش، گان، ماسک و عینک محافظ) استفاده شود.
- کار با نمونه‌های بالینی، حتماً در زیر هود میکروبیولوژیکی کلاس ۲ یا بالاتر انجام گیرد.
- تمامی مراحل انجام کار باید توسط افراد آموزش دیده انجام شود.
- دور ریختن بافرها، ریجنت‌ها و نمونه‌ها بر اساس مقررات و گایدلاین‌های مربوطه انجام شود: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>



DELTA BIOTECHNOLOGY
Delta vSNIp (E484K) Kit
A SARS-CoV2 Variant Screening Assay

50 Tests
REF DS001-001-50
LOT DB21G1-0001
2022/07

Incubator Center, University of Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
+983191010651
+982191010651

DELTA BIOTECHNOLOGY
Delta vSNIp (E484K) Kit
A SARS-CoV2 Variant Screening Assay

50 Tests
REF DS001-001-50
LOT DB21G1-0001
2022/07

Incubator Center, University of Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
+983191010651
+982191010651

DELTA BIOTECHNOLOGY
Delta vSNIp (L452R) Kit
A SARS-CoV2 Variant Screening Assay

50 Tests
REF DS003-001-50
LOT DB21G1-0001
2022/07

Incubator Center, University of Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
+983191010651
+982191010651

DELTA BIOTECHNOLOGY
Delta vSNIp (N501Y) Kit
A SARS-CoV2 Variant Screening Assay

50 Tests
REF DS001-001-50
LOT DB21G1-0001
2022/07

Incubator Center, University of Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
+983191010651
+982191010651

Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
<http://www.deltabiotechno.com>

DELTA BIOTECHNOLOGY
Delta vSNIp (E484K) Kit
A SARS-CoV2 Variant Screening Assay

50 Tests
REF DS001-001-50
LOT DB21G1-0001
2022/07

Incubator Center, University of Medical Sciences, Kashan, Isfahan, IRAN.
+983191010651
+982191010651