Delta vGenome Kit
A Real-Time PCR Assay for SARS-CoV-2 Detection
100 tests
REF DD001-001-100

DELTA BIOTECHNOLOGY
دلسا تشخیص آریا (دلتا)

دستورالعمل

کیت تشخیص کیفی ویروس SARS-CoV-2 بر اساس تکنیک ریل تایم پی‌سی‌آر

۱) مقدمه

کرونا ویروس‌ها خانواده‌ی نسبتا بزرگی از RNA ویروس‌های پوشش دار هستند که باعث بیماری‌های مختلفی از جمله سرماخوردگی، بیماری سندرم حاد تنفسی (SARS) و سندرم تنفسی خاور میانه (MRES) می‌شوند (1). در اواخر سال ۲۰۱۹ یک کروناویروس جدید در ووهان چین شناخته شده است که باعث ایجاد بیماری COVID-19 در انسان می‌شود (2,3). علایم شایع بیماری COVID-19 شامل تب، سرفه و تنگی نفس می‌باشد که در موارد شدیدتر می‌تواند باعث پنومونی، سندرم حاد تنفسی، نارسایی کلیه و در نهایت مرگ شود (4). در ماه مارس سال ۲۰۲۰ سازمان بهداشت جهانی (WHO) اعلام کرد که طغیان COVID-19 به صورت یک پاندمی شده است و از این وضعیت ابراز نگرانی کرد. در ماه ژوئن ۲۰۲۰ ژنوم این ویروس توالی‌یابی شد (GenBank accession number: MN908947) و مشخص گردید که این ویروس شباهت زیادی به ویروس کرونای عاملSARS دارد. به همین دلیل SARS-CoV-2 نامیده شد (5,6). از روی ژنوم این کروناویروس‌ها حداقل ۱۵پروتئین ساختاری و غیرساختاری کد می‌شود (7). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پروتئین‌های ساختاری و غیر ساختاری کرونا ویروس‌ها در روند پاتوژنز دخیل هستند (8). غشای این ویروس‌ها که دارای پروتئین‌های M، S (Spike) و E (Envelope) است- نوکلئوکپسید ویروس را احاطه می‌کند. نوکلئوکپسید از پروتئین N تشکیل شده است که توسط ژنی به همین نام در ژنوم ویروس کد می‌شود (7). یکی از ضروری‌ترین اولویت‌هایی که به منظور کنترل و درمان‌های مرتبط با سلامت عمومی مطرح است، موضوع تشخیص دقیق این ویروس می‌باشد. روش‌های تشخیصی مولکولی روش‌هایی با حساسیت و دقت بالا هستند که می‌توانند در تشخیص این ویروس بکار گرفته می‌شوند. در حال حاضر، پنل تشخیصی ویروس SARS-CoV-2 بر اساس روشMultiplex real-time RT-PCR می‌باشد (9) که در کشورهای مختلف با استفاده از ست‌های مختلف پرایمر-پروب طراحی شده برای انواع ژن‌های ویروسی مانند ژن *N*، ژن *RdRp* و ژن *E* بکار گرفته می‌شود که جزئیات این روش‌ها در سایت WHO موجود می‌باشد (10).

۲) کاربرد کیت

کیت Delta vGenome یک تست تشخیصی In vitro کیفی بر پایه‌ی تکنیک Probe-based real-time RT-PCR تک مرحله‌ای و مالتیپلکس است که به منظور تشخیص RNA ژنومی کروناویروس SARS-CoV-2 در نمونه‌های بالینی بدست آمده از افراد مشکوک به بیماری COVID-19 استفاده می‌شود. نتایج تست مذکور برای تشخیص RNA کروناویروس SARS-CoV-2 گزارش می‌شود. معمولا RNA ژنومی کروناویروس SARS-CoV-2 در نمونه‌های تنفسی در طی فاز حاد عفونت قابل تشخیص است. نتایج مثبت، تاییدکننده‌ی وجود RNA ژنومی کروناویروس SARS-CoV-2 و نتایج منفی رد کننده عفونت با SARS-CoV-2 نیست و نتایج باید در ترکیب با یافته‌های بالینی، شرح حال بیمار و اطلاعات اپیدمیولوژیکی بکار گرفته شوند. لازم به ذکر است که نتایج مثبت حاصل از تست، ردکننده‌ی وجود عفونت‌های باکتریایی و سایر ویروس‌های همراه نمی‌باشد. کیت Delta vGenome برای استفاده توسط پرسنل آزمایشگاه آموزش دیده می‌باشد.

۳) اساس تست

اساس کار کیت حاضر، تکنیک Multiplex probe-based one-step real-time RT-PCR به منظور شناسایی ژنوم کروناویروس SARS-CoV-2 است. در این روش، یک ناحیه در ژن *N* و یک ناحیه در ژن *RdRp* ویروسی بعنوان هدف تشخیصی در فرآیند PCR تکثیر می‌شوند. برای این منظور، ابتدا RNA ژنومی استخراج شده در یک تیوب تبدیل به cDNA می‌شوند و بدنبال آن، در همان تیوب واکنش تکثیر اهداف ژنومی انجام می‌شود (تک مرحله‌ای). در هر تیوب، به‌منظور شناسایی ناحیه‌ی هدف از دو ست پرایمر و پروب اختصاصی الیگونوکلئوتیدی استفاده می‌شود. این پروب‌ها که در سمت ِ۵ دارای رنگ‌های فلوروسنت (فلوفور) مختلف و در سمت ِ۳ دارای یک خاموش کننده (کوئنچر) هستند. یکی از پروب‌ها دارای رنگ سبز (FAM) و دیگری رنگ زرد (HEX) است که هر کدام از آن‌ها می‌توانند نواحی مختلفی از ژن‌های *N* و *RdRp* ویروس را تشخیص دهند. با این وجود، بدلیل وجود کوئنچر رنگ فلوروسنتی آزاد نمی‌شود. حین انجام PCR در صورت وجود ژنوم هدف، پرایمرها و پروب‌های اختصاصی به نواحی مربوطه متصل می‌شوند. به‌منظور تکثیر cDNA هدف، آنزیم پلیمراز فعال شده و شروع به سنتز رشته‌های جدید می‌کند. در حین سنتز رشته‌های جدید، این آنزیم با استفاده از فعالیت اگزونوکلئازی باعث هیدرولیز پروب‌های متصل شده به نواحی هدف مربوطه شده و در نتیجه کوئنچر از فلوفور جدا شده و در نتیجه رنگ‌های فلوروسنت مختلف آزاد می‌شوند که دستگاه Real-time PCR قادر به خوانش و ثبت آن می‌باشد. در نهایت بعد از پایان واکنش PCR نتایج با استفاده از نرم افزار مربوطه آنالیز می‌شوند. لازم به ذکر است که در کیت حاضر از یک ست پرایمر و پروب دیگر دارای رنگ قرمز فلوروسنت Texas red جهت شناسایی بخشی از ژن *RNaseP* انسانی بعنوان کنترل داخلی استفاده می‌شود. این کنترل داخلی جهت ارزیابی فرآیند نمونه‌گیری و استخراج ژنوم ویروس کاربرد دارد.

٤) محتوای کیت

کیت حاضر برای انجام ۱۰۰ تست تشخیصی است و دارای اجزای زیر می‌باشد:

	ریجنت‌ها*	مقادیر
۱	20X RTase Mix	۱ تیوب X ۱۰۰ میکرولیتر
۲	SARS-CoV-2 Master Mix	۱ تیوب X ۱۴۰۰ میکرولیتر
۳	Positive Control	۱ تیوب X ۱۰۰ میکرولیتر
٤	No Template Control (Nuclease-Free Water)	۱ تیوب X ۱۰۰ میکرولیتر

* **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 ۵ بار).
- ✓ در صورت نگهداری کیت در دمای ۴ درجه سانتیگراد، در کمتر از یک هفته استفاده شود.
- ✓ در صورت نیاز از هرکدام از اجزا بر اساس نیاز الیکوت تهیه شود.
- ✓ محلول Mastermix حاوی پرایمر و پروب نشاندار شده با مواد فلوروسنت است و تا حد امکان در معرض نور مستقیم قرار نگیرد.
- ✓ حتما قبل از استفاده از هرکدام از محلول‌های موجود در کیت، ورتکس/ اسپین انجام شود.

۵) سایر تجهیزات و مصرفی‌های لازم

	دستگاه / مصرفی	تعداد	توضیحات
۱	ورک استیشن (کابینت PCR)	۲ عدد	یکی برای تهیه PCR mix و دیگری برای اضافه کردن RNA ویروسی و کنترل‌ها است.
۲	ست سمپلر با حجم‌های مختلف	۲ ست	هر یک ست در زیر هر ورک استیشن قرار داده شود.
۳	مینی اسپین / ورتکس	۲ عدد	هر کدام در زیر هر ورک استیشن قرار داده شود.
٤	مینی اسپین با روتور استریپ خور یا سانتریفیوژ پلیت خور	۱ عدد	به منظور سانتریفوژ کردن استریپ تیوب‌ها یا پلیت حاوی واکنش PCR قبل از قرار دادن در دستگاه Real-time PCR استفاده می‌شود.
۵	دستگاه Real-time PCR	۱ عدد	دستگاه دارای قابلیت خوانش در حداقل ۳ کانال FAM، HEX و Texas red یا معادل طول موج آن‌ها باشد.
٦	کول رک (کرایو رک)	به تعداد لازم	برای حمل و نگهداری بافرها و نمونه‌های RNA در حین کار استفاده می‌شود.
۷	استریپ تیوب یا پلیت مخصوص Real-time PCR	به تعداد لازم	بر اساس نوع دستگاه Real-time PCR از نوع سفید یا شفاف استفاده می‌شود.
۸	اسپری حاوی محلول از بین برنده نوکلئازها	به مقدار لازم	به منظور تمیز کردن سطوح و تمامی وسایل استفاده می‌شود.
۹	سر سمپلر فیلتر دار در حجم‌های مختلف	به تعداد لازم	باید عاری از DNase و RNase باشند.

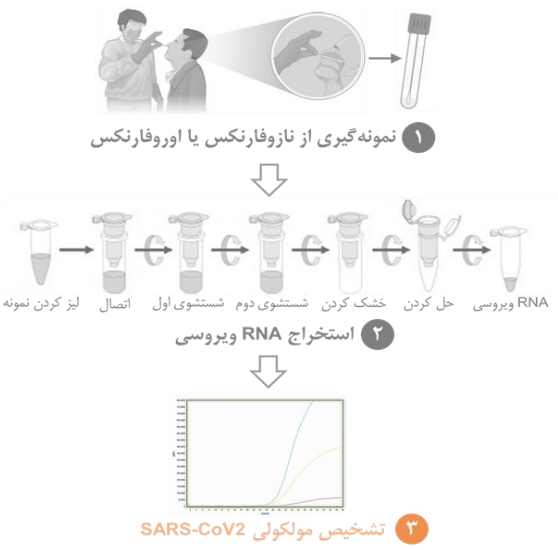
٦) ایمنی زیستی

- ❑ در حین کار با نمونه‌های بالینی حتما از وسایل حفاظتی (مثل دستکش، گان، ماسک و عینک محافظ) استفاده شود.
- ❑ کار با نمونه‌های بالینی، حتما 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

۷) نمونه‌ی بالینی مورد استفاده

سوآب گرفته شده از **نازوفارنکس (NPS)** و یا **اوروفارنکس (OPS)**

- ✓ نمونه‌گیری بر اساس گایدلاین CDC انجام شود: (https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html).
- ✓ نمونه‌های گرفته شده را می‌توان تا قبل از ۴۸ ساعت در دمای ۲- تا ۸- درجه‌ی سانتیگراد نگهداری نمود. در غیر اینصورت، نمونه‌ها در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتیگراد یا کمتر نگهداری شوند.
- ✓ RNA ویروسی استخراج شده از نمونه‌های بالینی را می‌توان به مدت یکماه در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتیگراد نگهداری نمود و بعد از آن به دمای ۷۰- درجه سانتیگراد انتقال داد.
- ✓ کارایی و پرفورمنس کیت حاضر بستگی به مقدار و کیفیت RNA استخراج شده دارد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود از یک کیت یا یک روش استخراج RNA ویروسی مناسب (چه دستی و چه اتوماتیک) استفاده شود.



۸) محدودیت‌های تست

- ❖ هرگونه تغییرات در پروتکل پیش رو ممکن است باعث ایجاد خطا در نتایج حاصله شود.
- ❖ تست حاضر باید توسط افراد متخصص آموزش دیده انجام شود.
- ❖ نتایج قابل اطمینان بستگی به جمع‌آوری، حمل، ذخیره و نگهداری مناسب دارد.
- ❖ کیت Delta vGenome صرفا برای انجام تست بر روی نمونه‌های ژنوم ویروس استخراج شده است. این تست نباید به‌طور مستقیم بر روی نمونه‌های بیمار انجام شود. قبل از انجام تست، حتما باید با استفاده از یک روش مناسب استخراج RNA از نمونه انجام شود.
- ❖ مهارکننده‌های موجود در حین استخراج RNA می‌توانند مانع از انجام واکنش نسخه‌برداری معکوس و یا تکثیر cDNA شوند.

۹) پروتکل انجام تست

۹-۱) در زیر یک ورک استیشن، اجزای کیت را مطابق جدول زیر درون یک میکروتیوب عاری از نوکلئاز با یکدیگر مخلوط نمایید تا میکس واکنش PCR بدست آید.

	اجزای واکنش*	حجم**
۱	20X RTase Mix	۱ میکرولیتر
۲	SARS-CoV-2 Master Mix	۱۴ میکرولیتر
	حجم نهایی	**۱۵ میکرولیتر**

* قبل از انجام تست تمامی اجزای کیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شوند تا به آرامی ذوب شوند. استفاده از کرایورک به منظور نگهداری محلول‌ها در این مرحله پیشنهاد می‌شود. سپس برای حل کردن و هموژن کردن محلول‌ها از ورتکس استفاده شود. در مرحله بعد، تمامی محلول‌ها اسپین شوند تا در صورتی که قطرات محلول روی درب تیوب‌ها باشد به ته میکروتیوب کشیده شود.

** مقادیر اورده شده در جدول به ازای یک نمونه (یک واکنش) هستند. در صورت استفاده از بیش از یک نمونه، تمامی مقادیر ضربدر تعداد نمونه‌ها شود. لازم به ذکر است که به ازای هر ۱۶ نمونه یک واکنش اضافی در نظر گرفته شود.

۹-۲) به ازای هر نمونه، مقدار **۱۵ میکرولیتر** از میکس واکنش را به هر چاهک از پلیت مخصوص Real-time PCR (یا هر تیوب از استریپ تیوب ۸تایی) اضافه نمایید.

۹-۳) در زیر یک ورک استیشن دیگر مقدار **۵ میکرولیتر** از هر یک از RNA استخراج شده‌ی ویروسی را به میکس مرحله‌ی قبل اضافه و اسپین نمایید.

نکات:

✓ در این مرحله، بطور موازی مقدار ۵ میکرولیتر از هر کدام از کنترل‌های مثبت و کنترل منفی (آب عاری از نوکلئاز) موجود در کیت را نیز به‌صورت جداگانه به چاهک حاوی میکس واکنش اضافه شوند.

✓ در حین انجام کار به‌منظور حفظ کیفیت RNAهای استخراج شده، پس از خارج کردن آن‌ها از فریزر، آن‌ها را برروی کرایورک مخصوص حمل و نگهداری نمایید.

۹-٤) واکنش‌ها را به دستگاه Real-time PCR منتقل کرده و برنامه‌ی آورده شده در جدول زیر را اجرا نمایید.

سیکل	مرحله	دما (درجه سانتیگراد)	زمان (ثانیه)
x ۱	نسخه‌برداری معکوس (سنتز cDNA)	۵۰	۶۰۰
x ۱	فعال شدن آنزیم پلیمراز	۹۵	۳۰۰
x ۴۵	باز شدن رشته‌های cDNA الگو	۹۵	۱۰
	جفت شدن پرایمرها و سنتز رشته های جدید	۵۵	۳۰ *

* خوانش فلوروسنت در کانال‌های FAM، HEX و Texas red در این مرحله انجام شود و در صورت نیاز Passive reference dye (ROX) در حالت خاموش قرار داده شود (بعنوان مثال در دستگاه‌های ساخت کمپانی Applied Biosystems یا دستگاهای مشابه).

۹-۵) بعد از انجام PCR، تفسیر نتایج بر اساس جدول زیر انجام شود.

تفسیر	Texas Red	HEX	FAM
وجود RNA ویروس SARS-CoV-2 در نمونه (جواب تست مثبت است)	±	+	+
نمونه فاقد RNA ویروس SARS-CoV-2 (جواب تست منفی است)	+	-	-
نمونه گیری به درستی انجام نشده است (تکرار آزمایش). استخراج به درستی انجام نشده است (تکرار آزمایش). احتمال وجود مهارکننده ی PCR در نمونه ی استخراج شده (تکرار آزمایش)	-	-	-
در صورت مشاهده مقادیر Ct کمتر از ۳۵ جواب تست مثبت است و در صورت مشاهده مقادیر Ct بیشتر از ۳۵ آزمایش باید تکرار شود.	±	-	+
	±	+	-

- مقادیر Ct (Cq) کمتر از ۳۵ بعنوان مثبت از نظر وجود ویروس و مقادیر بزرگتر از ۴۰ بعنوان منفی از نظر وجود ویروس در نظر گرفته شوند. لازم به ذکر است که مقادیر Ct بین ۳۵ تا ۴۰ بدون نتیجه‌گیری (Inconclusive) است. در چنین مواقعی پیشنهاد می‌شود آزمایشات بر روی نمونه تکرار شود.
- **پروب شناسایی کننده‌ی ژن *N* با رنگ فلوروسنت FAM ، پروب شناسایی کننده ژن *RdRp* با رنگ HEX و پروب شناسایی کننده‌ی ژن *RNase P* با رنگ Texas red نشاندار شده است.**
- کیت حاضر دارای ۲ نوع نمونه‌ی کنترل مثبت و منفی است. مقادیر Ct هر سه کانال FAM، HEX و Texas red برای کنترل مثبت کمتر از ۳۵ می‌باشند. نمونه‌ی کنترل منفی کیت حاضر آب عاری از نوکلئاز است که بعنوان No template control (NTC) در نظر گرفته می‌شود. در صورت وجود آلودگی ریجنت‌های کیت یا RNA ویروسی یا آلودگی‌های تکنیکی در حین آماده سازی واکنش PCR، ممکن است که رنگ فلوروسنت در کانال‌های مذکور توسط دستگاه خوانش شود. در صورت مشاهده‌ی مقادیر Ct برای نمونه‌ی NTC پیشنهاد می‌شود تا آزمایشات تکرار شوند.

۱۰) ارزیابی عملکرد کیت

کیت Delta vGenome از نظر بالینی و آنالیتیکی مورد ارزیابی قرار گرفت که بخشی از نتایج این ارزیابی‌های در زیر آورده شده است.

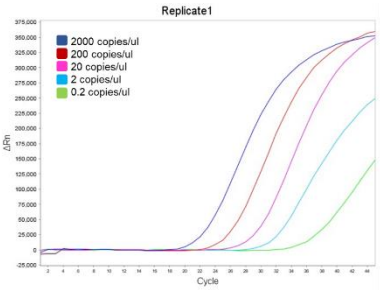
۱۰-۱) ارزیابی بالینی

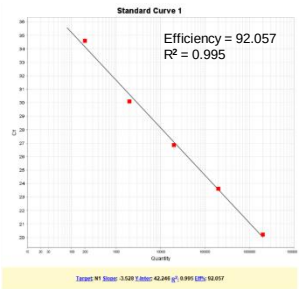
RNA ژنومی تعداد ۱۵۰ نمونه‌ی بالینی بررسی شده از قبل با استفاده از یک کیت تجاری موجود (شامل ۱۰۰ نمونه‌ی مثبت از نظر وجود کروناویروس SARS-CoV-2 و ۵۰ نمونه‌ی منفی) با استفاده از کیت حاضر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج ارزیابی بالینی در زیر آورده شده است:

نشخیص ویروس با استفاده از کیت استاندارد	تعداد	تشخیص با استفاده از کیت Delta vGenome		حساسیت (PPA)	اختصاصیت (NPA)
		مثبت	منفی		
مثبت از نظر وجود SARS-CoV-2	۱۰۰	۱۰۰	۰	۱۰۰ ٪	۱۰۰ ٪
منفی از نظر وجود SARS-CoV-2	۵۰	۰	۵۰	۱۰۰ ٪	۱۰۰ ٪

۱۰-۲) ارزیابی حساسیت آنالیتیکال

حد تشخیص (Limitation of detection, LOD) کیت تشخیصی حاضر با استفاده از انجام تست Real-time PCR بر روی شش سریال رقت از نمونه‌ی استاندارد ژنوم کروناویروس SARS-CoV-2 (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) با غلظت اولیه 2000 copies/ul بعنوان الگوی ژنومی بررسی شد (شکل زیر). ضریب رقیق سازی نمونه‌ها ۱۰ / ۱ در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که این آزمایش در ۱۵ تکرار انجام شد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که LOD تست حاضر معادل رقت پنجم یعنی تعداد 0.2 copies/ul معادل ۲۰۰ کپی از ویروس در میلی‌لیتر است.



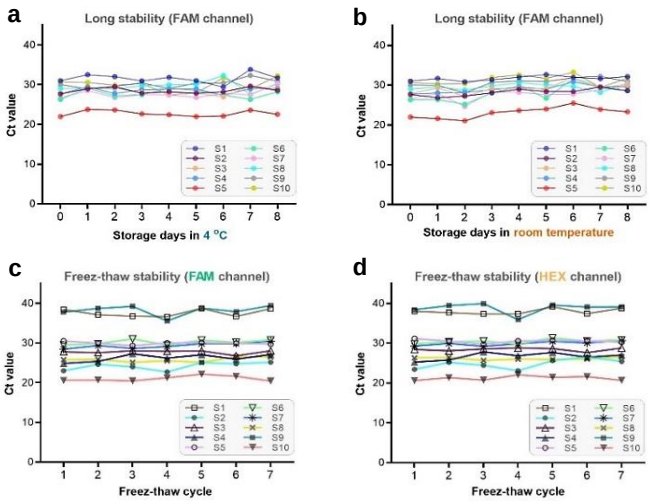


۱۰-۳) ارزیابی اختصاصیت آنالیتیکال

به منظور ارزیابی Cross reactivity آنالیز *in silico* توالی پرایمرها و پروب‌ها در مقابل توالی‌های ثبت شده از ژنوم ویروس‌های شبیه SARS-CoV-2، پاتوژن‌هایی که علائم مشابه با بیماری COVID-19 ایجاد می‌کنند و همچنین میکروارگانیسم‌های فلور نرمال انجام شد. به منظور تعیین *In vitro* اختصاصیت، ارزیابی Cross reactivity کیت حاضر با استفاده از یکسری از آزمایشات بر روی یک پنل از میکروارگانیسم‌های شامل Human Coronavirus NL63، Human Coronavirus OC43، Influenza A virus، Influenza B virus، Respiratory syncytial virus، Rhinovirus، Pseudomonas، Staphylococcus، Enterococcus، Klebsiella و Mycoplasma انجام گرفت (Wet lab). نتایج نشان داد که هیچکدام از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی با عملکرد کیت تداخلی ندارند و نتایج مثبت کاذب حاصل نمی‌شود .

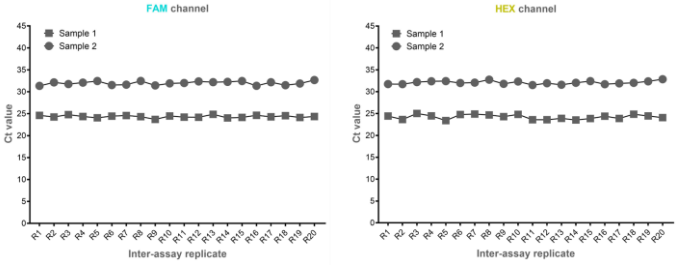
۱۰-٤) ارزیابی پایداری

اجزای کیت به مدت یک هفته در دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد و دمای محیط (۲۵ درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. در این دوره‌ی زمانی، هر یک روز عملکرد کیت بر روی ۱۰ نمونه‌ی بالینی (دارای Ctهای مختلف) در مقایسه با روز صفر در دو کانال FAM و HEX مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز کمی Ctهای حاصل در روزهای مختلف نشان داد که اختلاف معناداری از نظر آماری بین هر یک از روزها و روز صفر وجود ندارد (شکل a و b). نتایج این آزمایشات برای کانال FAM در زیر آورده شده است. بعلاوه، کیت حاضر به تعداد ۷ بار فریز و ذوب شد (Freeze-thaw) و در هر بار ۱۰ نمونه‌ی بالینی الیکوت شده با Ctهای مختلف (هر نمونه بعنوان تکرار مستقل) مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز نتایج به طور واضح نشان داد که تفاوت معناداری بین این Ctهای بدست آمده از این ۷ آزمایش وجود ندارد (شکل c و d). بنابراین، می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری نمود که کیت حاضر تحت این شرایط دارای عملکرد تشخیصی مطلوب است.



۱۰-۵) ارزیابی تکرارپذیری

تکرارپذیری نتایج حاصل از کیت بر اساس استانداردCLSI MM17 انجام گرفت (۲ نمونه بالینی با ۲۰ تکرار در روزهای مختلف بصورت دوپلیکیت) که نتایج آن در شکل زیر آورده شده است. داده‌های حاصل از تکرارهای مختلف با استفاده از تست آماری ANOVA آنالیز شدند و نتایج حاصل نشان داد که اختلاف معناداری بین تکرارهای مختلف برای هرکدام از نمونه‌ها وجود ندارد.



۱۱) منابع

1. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nature reviews Microbiology. 2019 Mar;17(3):181-92. PubMed PMID: 30531947.

2. Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, van Riel D, de Wit E. A Novel Coronavirus Emerging in China - Key Questions for Impact Assessment. The New England journal of medicine. 2020 Feb 20;382(8):692-4. PubMed PMID: 31978293.

3. Phelan AL, Katz R, Gostin LO. The Novel Coronavirus Originating in Wuhan, China: Challenges for Global Health Governance. Jama. 2020 Jan 30. PubMed PMID: 31999307.

4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506. PubMed PMID: 31986264.

5. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet. 2020 Feb 22;395(10224):565-74. PubMed PMID: 32007145.

6. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020 Feb 3. PubMed PMID: 32015508.

7. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. Nature reviews Microbiology. 2009 Jun;7(6):439-50. PubMed PMID: 19430490. Pubmed Central PMCID: 2830095.

8. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). StatPearls. Treasure Island (FL)2020.

9. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. 2020 Jan;25(3). PubMed PMID: 31992387. Pubmed Central PMCID: 6988269.

10. WHO Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans, 2020, https://www.who.int/ emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance.

آدرس: کاشان، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز رشد فناوری

شماره تماس: ۰۳۱۹۱۰۱۰۶۵۱ ۰۲۱۹۱۰۱۰۶۵۱

وبسایت: www.deltabiotechno.com

DELTA BIOTECHNOLOGY

دلسا تشخیص آریا (دلتا)