آوژن

دانشگاه شهید چمران اهواز

ویژه‌نامه

فروردین ۹۹

انجمن علمی دانشجویی ژنتیک بیوتکنولوژی

ژنوفیل

فروردین ۹۹

ویـــژه نامـــه

دوماه نامه‌ی علمی ژنوفیل

فهرست

۱ تاریخچه و شناخت کرونا

۲ پیشگیری

۴ درمان

۶ تشخیص

شناسنامه

صاحب امتیاز:

انجمن علمی دانشجویی ژنتیک بیوتکنولوژی

مدیر مسئول: زهرا نصب نجار

سردبیر و ویراستار: آرزو آروند

صفحه‌آرا، طراح لوگو وجلد: محمد ظهیری

هیئت تحریریه به ترتیب حروف الفبا :

آرزو آروند - زیست شناسی سلولی و مولکولی - Arezoo.arvandd@gmail.com

فاطمه افخمی - ژنتیک مولکولی - Fatemeh_afkhami@yahoo.com

امین محمدی - دکتری عمومی دامپزشکی - Mohammadi.amin91@gmail.com

شیوا مظاهری تهرانی - زیست فناوری - shiva_mazaheri97@yahoo.com

زهرا نصب نجار - زیست شناسی سلولی و مولکولی - zahra_na_1998@yahoo.com

سرویس ترجمه :

آرزو آروند

مهدیه پاپی

زهرا نصب نجار

تاریخچه و شناخت کرونا

نگارندگان :آرزو آروند و شیوا مظاهری

پاندمی و همه‌گیری در جهان:

در تاریخ ایران و سایر کشورهای جهان در دوران‌های گوناگون بارها همه‌گیری‌های وحشتناکی بروز کرده و هزاران انسان را به کام مرگ فرستاده است. گاهی گستردگی و تأثیر بیماری‌های واگیردار در ایران به حدی بوده که موجب دگرگونی‌های سیاسی، فرهنگی و اجتماعی شده است.

پیشینه بیماری‌های واگیردار مانند وبا، طاعون، سل و... به‌عنوان یکی از عوامل مهم مرگ و میر به هزاره‌های پیش از اسلام باز می‌گردد؛ به‌گونه‌ای که یافته‌های آسیب‌شناسی تاریخی حاکی از شواهد این قبیل بیماری‌ها در اسکلت‌های دوران نوسنگی هستند. حتی ستون مهره‌های کالبدهای مومیایی‌شده مصریان اثر سل را نشان داده‌اند.

بیماری‌های همه‌گیر و وضعیت دلهره‌آور ناشی از شیوع این بیماری‌ها همیشه مورد توجه جوامع علمی برای پیدا کردن راه مبارزه با آنها بوده است. از دوران باستان، تاکنون. پیشتر انسان این بیماری‌ها را یک جور عقوبت و عذاب الهی می‌دید. امروزه اما برخی افراد بیماری‌های همه‌گیر را به شکل نتیجه رفتار تجاورگرانه ما به محیط زیست می‌بینند در واقع امروزه رابطه‌ی ما و بیماری‌ها با گذشت زمان تغییر کرده است.

همه‌گیری (پاندمی) به چه معناست ؟

ظهور ناگهانی و گسترش سریع جهانی ویروس آنفلوانزا H1N1 جدید در اوایل سال ۲۰۰۹ باعث سردرگمی در مورد معنی کلمه "همه‌گیر" و چگونگی تشخیص همه‌گیری‌ها در هنگام وقوع آن‌ها شده است. هرگونه فرضیه مبنی بر اینکه اصطلاح پاندمی معنای مورد توافق همه را دارد، به سرعت در گفتمان‌ها و نشریات علمی خدشه‌دار شد. به نظر می‌رسد که استفاده از این اصطلاح توسط مراکز رسمی بهداشت، دانشمندان و رسانه‌ها با یکدیگر مغایرت دارد. به عنوان مثال، برخی معتقدند که سطح انتقال مواد کشنده برای اعلام بیماری همه گیر کافی است، در حالی که برخی دیگر معتقد بودند که شدت عفونت نیز باید در نظر گرفته شود.

اصطلاح "همه‌گیر" از واژه یونانی "pandemos" گرفته شده‌است که به معنی "همه مردم" است.

چگونه همه‌گیری اتفاق می‌افتد؟

بیماری همه‌گیر هنگامی اتفاق می‌افتد که ویروس جدیدی ظهور و گسترش می‌یابد ، در حالی که مردم برای آن ایمنی ندارند. این ویروس‌ها بیشتر از ویروس‌های حیوانی سرچشمه می‌گیرند. ویروس جدید می‌تواند به طور ناگهانی تغییر کند و با هر ویروس دیگری که وجود دارد متفاوت باشد. ما این پدیده را یک تغییر آنتی‌ژن می‌نامیم. هنگامی که ویروس جدیدی ایجاد می‌شود، می‌تواند توانایی عفونت و گسترش بین افراد را بدست آورد. این می‌تواند به همه گیری منجر شود. بعد از مدتی بدن انسان می‌تواند ایمنی ایجاد کند و حین اینکه ویروس همچنان در بدن است اما به همان اندازه خطرناک نیست.

یک بیماری همه گیر شش مرحله را طی می‌کند و از حیوانات شروع می‌کند و پس از آن افراد را آلوده می‌کند و در بین آن‌ها شیوع پیدا می‌کند و سرانجام در سراسر دنیا گسترش می‌یابد.

یک بیماری باید عفونی باشد تا بتوان آن را یک بیماری همه‌گیر قلمداد کرد. ما سرطان را یک بیماری همه‌گیر نمی‌دانیم زیرا مسری نیست، حتی اگر هر روز مسئول تعداد زیادی از مرگ‌ها باشد.

گریزی بر شیوع یک همه‌گیری نوپدید

"شیوع" یک کلمه نسبی است. شیوع مدرن می‌تواند ویروسی باشد که صدها هزار نفر را از بین ببرد (مانند آنفولانزای خوکی یا ویروس کرونا) یا یک حمل و نقل آلوده از مواد غذایی که ده‌ها بیمار را به خود اختصاص داده است. با این حال با نگاهی به تاریخ می‌بینید که شیوع‌های طول تاریخ آن چنان گسترده (چنان کشنده) هستند که اساساً روند تاریخ را تغییر دهند.

در طول تاریخ طاعون، وبا، آنفولانزای اسپانیایی، آنفولانزای خوکی، آبله و ایدز و ... جزو مهم‌ترین و کشنده‌ترین همه‌گیری‌ها، علاوه بر همه‌گیری‌های زیاد دیگری که بشر با آن درگیر بوده است شناخته می‌شوند.

اکنون ویروس کرونا نیز به این لیست پیوسته و تاکنون در بیش از ۲۰۰ کشور با سرعت زیادی در حال گسترش است. به طوریکه همه‌ی کشورها به طرق مختلف به خود قرنطینگی پرداخته و روند زندگی عادی دچار اختلال شده است.

از آنجایی که این اولین بار نیست که یک بیماری به این مرحله می‌رسد، بنابراین رسیدن به این مرحله به معنای غیرممکن بودن شکست بیماری نیست. این را می‌شود از رسیدن آبله و سل به پاندمی در قرن‌های گذشته دریافت یا حتی سراغ مثال‌های امروزی‌تر رفت و به یاد آورد که چگونه آنفلوانزای خوکی به پاندمی رسید، اما مهار شد!

اتفاقی که باید امیدوار باشیم به زودی برای ویروس کرونا نیز رقم بخورد، هرچند شدت شیوع این ویروس نوپدید در روزهای اخیر به شدت فزونی یافته و به نظر، آثار سوء آن تا مدت‌ها همراه جهانیان خواهد بود.

کرونا؛ مهمان دهه‌ی سوم قرن ۲۱

کروناویروس‌ها خانواده‌ی بزرگی از ویروس‌ها و زیر مجموعه کروناویریده هستند که از ویروس سرماخوردگی معمولی تا عامل بیماری‌های شدیدتری همچون سارس، مرس و کووید ۱۹ را شامل می‌شود.

کرونا ویروس‌ها که پس از راینو ویروس‌ها بزرگترین عامل ابتلا به سرماخوردگی هستند، بیشتر در زمستان و بهار باعث سرماخوردگی می‌شوند. اگرچه کرونا ویروس‌ها بیشتر در حیوانات دیده می‌شوند، اما هفت نوع از آن‌ها دستگاه تنفسی بدن انسان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تشخیص اینکه علت بیماری کرونا ویروس باشد یا خیر کمی مشکل است، چرا که برخلاف راینو ویروس‌ها به سختی در آزمایشگاه رشد و نمو می‌کنند.

ساختار این ویروس از دو لایه تشکیل شده‌است؛ هسته این ویروس را ماده ژنتیکی از جنس RNA و لایه بیرونی آن را تاج‌های‌پروتئینی تشکیل داده‌اند. پس از ورود به سلول میزبان، پوشش خود را از دست داده و ژنوم آن وارد سیتوپلاسم سلول می‌شود.

خانواده ویروس کرونا همیشه از گونه حیوانی به گونه دیگری منتقل شده است. این ویروس برای انتقال آسان‌تر ممکن است تکامل پیدا کند و موجب بیماری سخت‌تری شود.

منابع: Resources

Cascella, M., Rajnik, M., Cuomo, A., Dulebohn, S. C., & Di Napoli, R. (2020). Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. Jama.

www.rwjf.org

www.who.int

www.usnews.com

www.worldatlas.com

پیشگیری

نگارندگان :آرزو آروند و فاطمه افخمی

قطعا پیشگیری بهترین عملکرد مقابل این بیماری است که راهکارهای آن بر جداسازی بیماران و کنترل دقیق عفونت متمرکز شده‌اند، از جمله اقدامات مناسب که هنگام تشخیص و ارائه‌ی مراقبت‌های بالینی به بیمار آلوده اتخاذ می شوند، بسیار مهم است.

روش‌های انتقال

هوا (ذرات ویروس ناشی از عطسه و سرفه)
ارتباط نزدیک انسانی (لمس کردن و دست دادن)
اشیا و سطوحی که ذرات ویروسی روی آن هستند (لمس کردن دهان، چشم‌ها و بینی پیش از شستن دست‌ها)
در موارد نادر از آلودگی مدفوعی

علائم

امکان انتقال بیماری از لحظه‌ی برخورد با ویروس تا حدود دو هفته پس از درمان (کلا حدود چهار هفته) به سایر افراد نیز وجود دارد.
هرچند میزان مسری بودن آن رفته رفته کاهش می‌یابد.
از زمانیکه در معرض ویروس قرار گرفتید تا بروز علامت‌ها، بین ۲ تا ۱۴ روز است.
در موارد خفیف، علائم بیماری شبیه به سرماخوردگی است و اغلب به اشتباه آنفولانزا تشخیص داده می‌شود؛ اما شدت این بیماری پس از چند روز بیشتر می‌شود و سرفه‌های شدیدتر و خشک‌تر، تب بالا و درد و ضعف بدن به آن اضافه می‌شود.
در موارد حاد، ویروس کرونا دستگاه تنفسی و گاها کلیه‌ی فرد را درگیر می‌کند و باعث بروز مشکلات جدی برای بیمار و سخت نفس کشیدن می‌شود.
در ۸۰ درصد موارد علائم خفیف و در ۱۸ درصد موارد علائم حادتر و تنها در ۲ درصد موارد مرگ در گروه‌های پرخطر رخ می‌دهد. در بقیه موارد سیستم ایمنی بدن در برابر ویروس مقاومت کرده و روند بهبود در فرد طی می‌شود.

گروه‌های پرخطر

سالمندان و افرادی که دارای مشکلات تنفسی، بیماری قلبی، ضعف سیستم ایمنی به دلیل انواع سرطان‌ها و بیماری‌های نقص ایمنی[1] هستند، بیشتر در معرض ابتلا به کرونا ویروس قرار دارند.
کودکان هم به کرونا مبتلا می‌شوند اما شدت آن بسیار کمتر است. با این‌حال کودک مبتلا می‌نواند ناقل باشد و درهرصورت باید مراتب احتیاط را بجا آورد.

چگونه از خود در مقابل این ویروس مراقبت کنیم؟

- دستان خود را حداقل به مدت ۲۰ ثانیه با صابون و آب بشویید.
- از دست‌زدن به چشم، بینی یا دهان خودداری کنید.
- از تماس نزدیک با افرادی که مریض هستند خودداری کنید.
- هنگام سرفه یا عطسه دهان خود را با یک دستمال بپوشانید ، سپس دستمال را درون سطل زباله بیندازید و دستان خود را بلافاصله بشویید. (پوشاندن دهان و بینی در زاویه‌ی داخل آرنج نیز در صورت در دسترس نبودن دستمال توصیه شده است.)
- اشیاء و سطوحی که اغلب لمس می شود را تمیز و ضد عفونی کنید.
- پرهیز از مصرف گوشت خام یا نپخته
- بطور مداوم و با رعایت اصول بهداشتی[2] از ماسک استفاده کنیم. (لازم به ذکر است که ماسک جراحی نمی‌تواند جلوی ورود ویروس قطرات آلوده را بگیرد و صرفا مانع تماس دست‌ها با بینی و دهان خواهدبود)

عمر ویروس

انستیتوی آمریکایی تحقیقات درباره‌ی آلرژی‌ها و بیماری‌های عفونی، اطلاعات تازه‌ای را درباره‌ی عمر ویروس کرونا و مقاومت این ویروس در محیط زیست منتشر کرده‌است. با این‌حال نتایج تمام این مطالعات تقریبی است و بسته به شرایط محیطی مثل حرارت یا رطوبت می‌تواند متفاوت باشد.
براساس این تحقیقات، ویروس کرونا سه ساعت بعد از پخش از طریق قطرات بسیار ریز (ایروسول) همچنان زنده است. به عبارت ساده‌تر،

ذرات بسیار کوچکی که با عطسه یا سرفه از دهان و بینی خارج می‌شود و حامل ویروس است، می‌تواند به مدت سه ساعت ناقل بیماری باشد. اما ویروس در هوا باقی نمی‌ماند و در صورتی می‌تواند آلوده‌کننده باشد که بر سطح جامدی منتقل شود: مطابق آزمایش‌ها ویروس کرونا روی سطوح مسی به مدت ۴ ساعت، روی مقوا ۲۴ ساعت، و روی پلاستیک یا فولاد ضدزنگ دو تا سه روز باقی می‌ماند. بدین ترتیب روشن است که ضدعفونی کردن سطوحی مثل دستگیرهٔ در، دکمه‌های آسانسور و یا میز کار ضروری است.

ضدعفونی با الکل صنعتی؟

در کشور در چند روز اخیر شاهد مسمومیت و مرگ هموطنانمان در نقاط مختلف کشور در اثر مصرف الکل برای محافظت افراد در برابر این ویروس بوده‌ایم، لازم به ذکر است که تاکنون از طرف سازمان جهانی بهداشت و هیچ نهاد بین المللی معتبر دیگری در حوزه سلامت، مصرف خوراکی هیچ یک از انواع الکل‌ها برای پیشگیری و درمان ویروس کرونا توصیه نشده است و توصیه ها صرفا به تاثیر مثبت استفاده از الکل‌ها، به طور خاص اتانول (الکل طبی یا الکل ضد عفونی کننده) نه انواع دیگر آن در ضدعفونی سطوح اشاره دارد.

الکل صنعتی یا متانول در بین الکل‌ها ضعیف‌ترین خاصیت میکروب‌کشی و بیشترین خاصیت سمی را دارد و با توجه به اینکه به راحتی می‌تواند از طریق پوست و تنفس جذب شود، استفاده از آن برای ضد عفونی کردن سطح بدن توصیه نمی‌شود و ممکن است باعث مسمومیت شود.

دخانیات؟

استعمال دخانیات تا حد بسیار زیادی می‌تواند سیستم ایمنی بدن را ضعیف کند و شواهد نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر ناشی از کرونا در افرادی که از دخانیاتی مانند سیگار، قلیان یا الکل استفاده می‌کنند بسیار بیشتر است.

در صورت مصرف دخانیات به صورت گروهی، احتمال انتقال این ویروس به سایر افراد گروه افزایش پیدا می‌کند. با توجه به اینکه کرونا قابلیت ماندگاری زیادی روی سطوح دارد روی اجزای داخلی و بیرونی قلیان از جمله بدن، شلنگ و مخزن آب به مدت طولانی می‌نشیند و به علت عدم امکان ضدعفونی ابزارهایی مانند قلیان، براحتی از فردی به فرد دیگر منتقل می‌شود.

اگر در خانه کسی آلوده به ویروس شد؟

بیمار در اتاقی که تهویه‌ی کافی دارد نگه داشته شود.

میزان تحرک بیمار محدود نگه داشته شود و اطمینان حاصل شود که قسمت‌های مشترک منزل که در آن رفت‌وآمد دارد (مثل آشپزخانه یا دستشویی) دارای تهویه‌ی کافی هستند.

اگر افراد دیگر قادر نیستند که در اتاق جداگانه‌ای زندگی کنند، همیشه حداقل یک متر فاصله را با شخص بیمار حفظ کنند.

تعداد افرادی که از بیمار نگهداری می‌کنند در حداقل ممکن باشد.

به رعایت بهداشت دست‌ها توجه شود. از دستکش و دستمال کاغذی یکبار مصرف برای خشک‌کردن دست‌ها استفاده شود و هر دو پس از مصرف دور انداخته شود.

اگر بیمار خلط دارد یا سرفه و عطسه می‌کند به وی ماسک جراحی داده شود تا در تمام زمان‌های ممکن از آن استفاده کند.

کسی که از بیمار نگهداری می‌کند از یک ماسک که به خوبی روی صورت فیت می‌شود استفاده کند. از دست زدن به ماسک خودداری شود و پوشیدن و درآوردن آن از پشت سر با کمک بندها انجام شود.

سطوحی که از طریق آن بیماری قابل انتقال است (نظیر دستگیره درها، البسه، ملحفه و غیره) به‌طور مرتب (حداقل روزانه) ضدعفونی شوند.

در صورت شدید شدن بیماری و بروز علائم شدید تنفسی بلافاصله با مراکز مربوطه و اورژانس تماس بگیرید.

کرونا و حیوانات خانگی

نگرانی‌ها در مورد بیماری حیوانات با COVID-19 و انتشار آن به صاحبانشان و سایر حیوانات در ۲۸ فوریه بیش‌تر شد. در این تاریخ مسئولین مربوط به سلامت و بهداشت هونگ‌کونگ اعلام کردند یک سگ متعلق به یکی از شهروندان زن، بیمار شده و تست او مثبت ضعیف بوده‌است. بازرسان بهداشت اتفاق نظر داشتند که ویروس احتمالا از صاحب سگ به حیوان منتقل شد.

علاوه بر آن آلودگی ببری بنام "نادیا" در باغوحش نیویورک که پس از انجام آزمایش‌های بسیار ثابت شد این ویروس از نگهبان آن باغوحش به این حیوان منتقل شد نیز می‌تواند دلیلی بر درست بودن این احتمال باشد.

با اینکه بین دانشمندان هنوز هیچ اطمینانی مبنی بر اینکه "مثبت ضعیف" بودن آیا واقعا مثبت محسوب می‌شود یا خیر وجود ندارد اما به گفته CDC، نگهداری از حیوانات خانگی هیچ مشکلی ندارد و لازم نیست آن‌ها را از خود دور کنید. با این‌حال پس از هر بار تماس با حیوان خانگی یا بازی با آن‌ها جهت جلوگیری از انتقال باکتری‌هایی مانند ای.کلای یا سالمونلا که باعث بیماری انسان‌ها می‌شوند، دست‌های خود را بشویید و سایر توصیه‌های بهداشتی را رعایت کنید.

---

[۱] شامل بیماری‌های زمینه‌ای مانند دیابت کنترل نشده و آسم و انواع آلرژی‌های ریوی، بیماری‌های نارسایی کلیوی و کبد، ایدز و حتی درصورت مصرف داروهای سرکوب کننده ایمنی و شیمی درمانی نیز جزو این دسته از افراد قرار می‌گیرید.

[۲] ماسک باید به‌طور کامل بینی و دهان را بپوشاند و در طول مدت استفاده، از تماس دست با ماسک پرهیز شود.

گذاشتن و برداشتن ماسک به روش صحیح انجام شود (از عقب و با استفاده از بندهای ماسک، نه از جلو و با تماس مستقیم دست با خود ماسک).

پس از تماس دست با ماسک (مثلاً در زمان دور انداختن آن) دست‌ها شسته یا ضدعفونی شوند.

هرگاه ماسک مرطوب شده باشد باید تعویض گردد.

ماسک‌های یکبار مصرف پس از استفاده دور انداخته شوند.

از استفاده از ماسک‌های پارچه‌ای (یا چندبار مصرف) پرهیز شود.

منابع: Resources

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., … Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet (London, England), 395(10223), 497–506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5

Lee, V. J., Chiew, C. J., & Khong, W. X. (2020). Interrupting transmission of COVID-19: lessons from containment efforts in Singapore. Journal of Travel Medicine.

Koonin, L. M. (2020). Novel coronavirus disease (COVID-19) outbreak: Now is the time to refresh pandemic plans. Journal of Business Continuity & Emergency Planning, 13(4), 1-15.

درمـــان

نگارندگان :آرزو آروند و زهرا نصب‌نـجار

هرچند عوارض در بیشتر اوقات بخودی خود رفع می‌شوند اما کسانی که بیماری شدید با مشکلات پیچیده دارند می‌توانند در بیمارستان تحت مراقبت باشند.

هیچ درمان بخصوصی برای COVID-19 وجود ندارد. با این‌حال دانشمندانی از سراسر دنیا درحال تلاش برای یافتن واکسن و درمان این بیماری می‌باشند. در زیر به نمونه‌ای از معروف‌ترین تدابیر درحال انجام در سراسر جهان می‌پردازیم.

پلاســمادرمانی

هنگامی که افراد مبتلا به COVID-19 بهبود می یابند، خون آن‌ها حاوی آنتی‌بادی‌هایی است که بدن آنها برای مبارزه با کورونا ویروس تولید کرده و به آنها در بهبودی کمک می‌کند. آنتی بادی‌ها در پلاسما، که جزئی از خون است، یافت می‌شوند.

پلاسمای حاوی آنتی‌بادی از بیمار بهبود یافته به بیمار مبتلا منتقل می‌شود. این آنتی‌بادی‌ها به بیمار در مبارزه با بیماری کمک می‌کند که نتیجه‌ی این مبارزه احتمالاً کوتاه کردن طول یا کاهش شدت بیماری می‌باشد.

اگرچه پلاسمای بکار رفته سالهاست که مورد استفاده قرار می‌گیرد اما FDA در ۲۴ مارس شروع به استفاده از پلاسمای بکار گرفته شده در بیماران مبتلا به عفونت‌های جدی یا تهدیدکننده COVID-19 کرد. این روش درمانی هنوز هم تجربی تلقی می‌شود وکارشناسان بهترین زمان پلاسمادرمانی را در طول دوره بیماری بطور قطع نمی‌دانند.

چه کسی می تواند پلاسما را برای COVID-19 اهدا کند؟

برای اهدا پلاسما، فرد باید معیارهای مختلفی را رعایت کند. باید نتیجه تست آنها برای بیماری مثبت شده باشد، سپس بهبودی پیدا کنند و بعد از آن برای ۱۴ روز هیچکدام از علائم را بروز ندهند! اهدا کننده و بیمار نیز باید دارای گروه خونی سازگار باشند.

هر اهداکننده پلاسمای کافی برای درمان یک تا سه بیمار تولید می‌کند. البته باید دقت کرد که اهدای پلاسمای خون نباید سیستم ایمنی بدن دهنده را تضعیف کند در غیر اینصورت وی مستعد ابتلای مجدد به ویروس می‌شود.

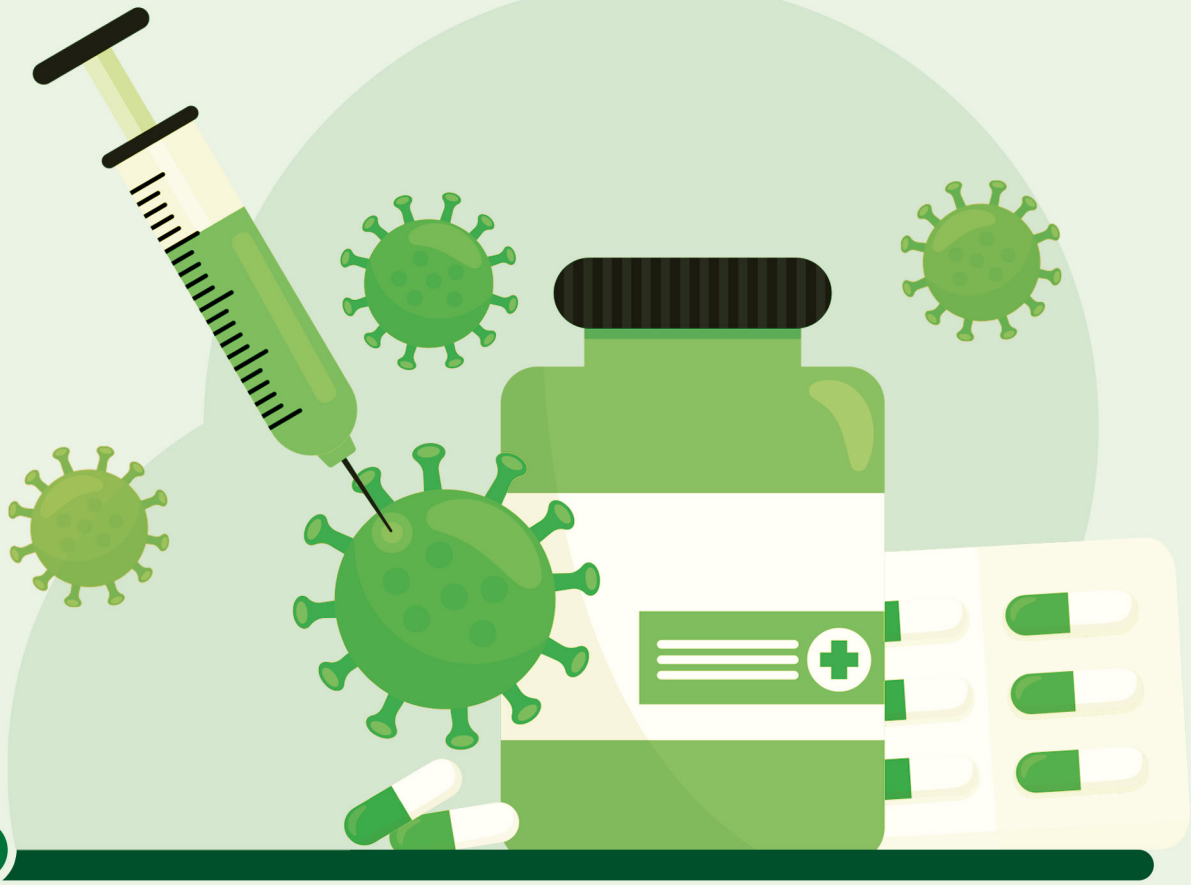
از دیگر راهکارهای درمانی، کورتیکواستروئیدهای سیستمیک برای درمان پنومونی ویروسی یا سندرم دیسترس حاد تنفسی (ARDS) هستند که توصیه نمی‌شوند. علاوه بر این، **از مصرف غیرضروری یا نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها باید اجتناب شود**، اگرچه برخی مراکز آن را توصیه می‌کنند.

روش‌های مختلفی نظیر لوپیناویر / ریتونوویر (۱۰۰/۴۰۰ میلی‌گرم در هر ۱۲ ساعت) ، کلروکین (۵۰۰ میلی‌گرم در هر ۱۲ ساعت)، هیدروکسی کلروکین (۲۰۰ میلی‌گرم در هر ۱۲ ساعت) و آلفا ـ اینترفرون (به عنوان مثال ، ۵ میلیون واحد با استنشاق آئروسل دو بار در روز) نیز پیشنهاد شده که از میان آنها هیدروکسی کلروکین که قبلا بعنوان داروی مالاریا استفاده می‌شد، پس از تایید نهایی به تولید انبوه برای استفاده‌ی مراکز درمانی جهت کاهش التهاب رسیده است.

سیستم ایمنی و جنگ داخلی بدن با کرونا

سیستم دفاع اولیه بدن در مقابل هر بیماری شامل عواملی مثل پوست و مخاطات می‌باشد که در صورت عدم رعایت موارد بهداشتی مثل وجود زخم‌های باز ، امتناع از شستشوی مدوام دست و صورت و لمس صورت با دستان آلوده و حضور مداوم در اماکن شلوغ به ویژه بدون وسایل محافظت کننده می‌تواند عملکرد دفاع ذاتی بدن را به سادگی بر هم زند.

پس از ایمنی ذاتی ،سیستم ایمنی اختصاصی پا به میدان می گذارد و با شناسایی عوامل خارجی و کنترل آن‌ها و در صورت لزوم حمله به سلول‌های آلوده به ویروس، اقدام به دفاع بدن می‌کند. برای تحکیم و تقویت این سیستم موارد مهمی باید در دوران همه‌گیری رعایت شود که به اختصار در بخش‌های پیش رو به آن‌ها خواهیم پرداخت.



امید است با رعایت این موارد خانواده‌های ایرانی بتوانند با تندرستی دوران همه‌گیری COVID-19 را پشت سر بگذارند.

به خط مقدم دفاعی بدن گل به خودی نزنید

ترس و اضطراب در دوران همه‌گیری می‌تواند عواقب غیر قابل جبرانی برای خط مقدم دفاع از سلامتی شما به همراه داشته باشد.استرس‌های طولانی مدت با تغییر تعادل سیتوکاین[1] نوع ۱ و ۲ و القای التهاب مزمن و سرکوب عملکرد سلول‌های ایمنی می‌توانند پایه‌های ایمنی اولیه و اختصاصی را سرکوب یا مختل کنند. سرکوب سیتوکاین نوع۱ و سلول‌های T محافظ و با افزایش عملکرد سلول‌های T سرکوب‌گر ، بدن بیش از پیش مستعد ابتلا به عفونت‌های ویروسی می‌شود.

اضطراب طولانی مدت منجر به ترشح طولانی مدت هورمون‌های عصبی استرس به‌ویژه کاتکول‌آمین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدهایی مثل کورتیزول می‌تواند با اثراتی همچون:

- کاهش تعداد سلول‌های NK[2]
- کاهش جمعیت لنفوسیت‌ها و تکثیر آن‌ها
- کاهش تولید آنتی‌بادی
- فعال‌سازی مجدد عفونت‌های ویروسی نهفته
- تخریب پروتئین‌ها دفاعی توسط سلول‌های بدن
- بر سیستم ایمنی بدن عواقب جدی بر سلامت بدن خواهد داشت

تسلیحات کافی، دفاع قدرتمند در پی خواهد داشت

بهترین پاسخ‌های ایمنولوژیک نیازمند تغذیه بهینه شامل مصرف کافی ویتامین‌ها ، عناصر کمیاب و پروتئین‌ها خواهد بود.

کمبود ریزمغذی‌ها با اثر بر پاسخ ایمنی سلولی و همورال ، عملکرد ایمنی را سرکوب کرده و منجر به اختلال در تنظیم پاسخ متعادل در بدن میزبان می‌شود و حساسیت دربرابر عفونت‌ها را افزایش می دهد.

ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی[3] و عناصر کمکی[3] با جلوگیری از آسیب احتمالی توسط رادیکال‌های آزاد به بافت‌های سلولی یاری رسانده و با تنظیم فاکتورهای رونویسی حساس به اکسایش و کاهش، عملکرد سلول‌های ایمنی را تعدیل کرده و بر تولید سیتوکاین‌ها و پروستاگلاندین‌ها[4] اثر می گذارد.

سلول‌های T بسیار تحت تاثیر جذب مواد غذایی از محیط خود هستند و تغییر در وضعیت کلی مانند سوءتغذیه و چاقی می‌تواند منجر به تغییر متابولیسم و عملکرد سلول‌های T شود. در حالت های سوء تغذیه و گرسنگی شدید، تکثیر و تولید سیتوکاین های التهابی کاهش می‌یابد.

رتینوئیک اسید برای رشد طبیعی و عملکرد سیستم‌های تولید سلول‌های ایمنی بسیار مهم است. سلول‌های B به عنوان کارخانه تولید آنتی‌بادی و عاملی برای تنظیم سیستم ایمنی بدن بسیار مهم است. رتینوئیک اسید عاملی در روند بلوغ و تکامل سلول‌های B، تکثیر آن‌ها، تنظیم عوامل رونویسی مرتبط با تمایز و نرترکیبی سوئیچ کلاس سلولی و توید سلول‌های ترشح کننده آنتی‌بادی موثر است.

کمبود پروتئین‌ها با اختلال در :

- ایمنی سلولی
- عملکرد فاگوسیت‌ها و کمپلمان‌ها
- غلظت ایمنوگلوبین A و آنتی بادی‌های ترشحی
- تولید سیتوکاین‌ها

بر سیستم ایمنی بدن اثر می‌گذارد.

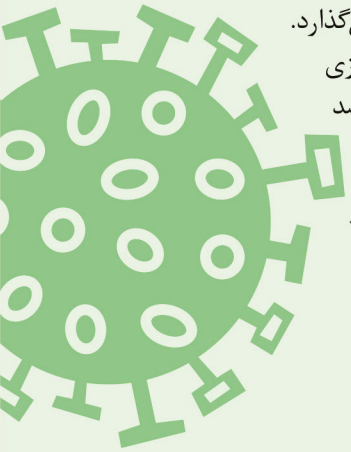
اسید آمینه آرژنین برای تولید اکسید نیتریک توسط ماکروفاژها ضروری‌ست. طی درگیری با عامل بیماری زا ، مصرف گلوتامین توسط سلول‌های ایمنی معادل یا بیش از مصرف گلوکز است ، چرا که در سنتز نوکلئوتیدها برای تقسیم سریع سلول‌های ایمنی طی پاسخ ایمنی نقش پیشرو ایفا می‌کند.

سلنیوم و روی به عنوان کوفاکتور پروتئین‌های ساختاری و کاتالیزی بسیار ضروری هستند. کمبود سلنیوم عملکرد سلنوپروتئین‌های ایمنی و کمبود اندک عنصر روی پاسخ ایمنی ذاتی و اختصاصی را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

مصرف کافی ویتامین‌های گروه C ، B و E و عناصر معدنی با اثر بر پاسخ ایمنی لنفوسیت‌های کمک کننده نوع ۱ و تولید سیتوکاین‌های پیش التهابی از سیستم ایمنی پشتیبانی می‌کند. ویتامین‌های A و D نقش مهمی در پاسخ ایمنی همورال دارند و موجب تولید نوعی سیتوکاین ضدالتهابی در لنفوسیت‌های کمک‌کننده نوع ۲ می‌شود.

کمبود ویتامین D، که در بسیاری از افراد مبتلا به COVID-19 مشاهده شده است ، بر ایمنی ذاتی و تخصصی اثر می‌گذارد.

کمبود ویتامین A ، ایمنی ذاتی جهت بازسازی اپیتلیال مخاطی و پاسخ ایمنی اختصاصی ضد پاتوژن‌های خارج سلولی را مختل می‌کند.



[1] پروتئین‌های محلول ترشح شده توسط سلول‌های ایمنی که به عنوان پیام‌رسان شیمیایی، عملکرد سیستم ایمنی را تنظیم می‌کند.

[2] Natural killer cells

[3] ویتامین C و E

[4] واسطه‌های شیمیایی لیپیدی که نقش ضدالتهابی دارد.

منابع: **Resources**

S Cohen, K Danzaki, NJ MacIver - European journal of ..., 2017 - Wiley Online Library,Diet and Immune Function

CE Childs, PC Calder, EA Miles - 2019 - mdpi.com

Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful

FS Dhabhar - Immunologic research, 2014 - Springer

Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful

FS Dhabhar - Immunologic research, 2014 – Springer

تشخیص

نگارنده : امین محمدی

تشخیص و کیت تشخیص ویروس کرونا به چه صورت است؟

مبارزه با بیماری‌های عفونی ناشی از ویروس‌ها، علی‌رغم پیشرفت‌های چشمگیر در مراقبت‌های بهداشتی، همچنان یک امر چالش برانگیز و بی‌منتهاست. بیماری‌های عفونی خطرات قابل توجهی برای سلامتی انسان به همراه دارند و منجر به تقریباً یک‌چهارم مرگ‌ومیرها در سراسر جهان شده‌اند.

درباره‌ی این پاندمی، تشخیص SARS-CoV-2 RNA به‌منظور، تشخیص زودرس بیماری COVID-19 حائز اهمیت خواهد بود و می‌تواند برای کنترل منابع عفونت و جلوگیری از پیشرفت بیماری مفید باشد. بنابراین تشخیص سریع و دقیق Coronavirus بیش از پیش اهمیت می‌یابد. با پیشرفت فناوری بیولوژی مولکولی، روش‌های شناسایی اسیدنوکلئیک به سرعت توسعه یافته و به یک فناوری انقلابی برای تشخیص ویروس‌ها تبدیل شده‌اند. به خصوص، روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ی پلیمراز (PCR) که با قابلیت تشخیص سریع، حساسیت و ویژگی بالا به عنوان "استاندارد طلایی" برای تشخیص ویروس در نظر گرفته شده‌اند. علاوه بر این، چندین آزمایش مولکولی که از روش‌های دیگر استفاده می‌کنند، مانند LAMP و CRISPR نیز، برای تشخیص RNA کروناویروس جدید توسعه داده شده‌اند.

◀ بررسی روش RT-PCR برای شناسایی RNA ویروس عامل بیماری کووید۱۹ به زبان ساده:

RT-PCR چیست؟ چگونه کار می‌کند؟ در اینجا خلاصه ای از تکنیک، نحوه‌ی کارکرد و جزئیات نوینی در مورد ویروس‌ها و ژنتیک آورده شده است.

RT-PCR چیست؟

RT-PCR (real time) روشی برای تشخیص وجود ماده‌ی ژنتیکی خاص از هر عامل بیماری زا، از جمله ویروس است. ابتدا، در این روش از نشانگرهای ایزوتوپ رادیواکتیو برای کشف مواد ژنتیکی عوامل مختلف استفاده می‌شد، اما تحقیقات بعدی منجر به جایگزینی مارکرهای ایزوتوپی با نشانگرهای ویژه، که اغلب رنگ‌های فلئورسنت دارند، می‌شود. با این تکنیک، دانشمندان می‌توانند نتایج را تقریباً بلافاصله مشاهده کنند، در حالی که روند آزمایش همچنان ادامه دارد؛ اما RT-PCR معمولی نتایج را فقط در انتها ارائه می‌دهد.

RT-PCR (real time) اکنون متداول‌ترین روش برای تشخیص کروناویروس است اما بسیاری از کشورها هنوز هم در راه‌اندازی و استفاده از این تکنیک به پشتیبانی نیاز دارند.

ویروس چیست؟ مواد ژنتیکی چیست؟

ویروس یک مجموعه‌ی میکروسکوپی از مواد ژنتیکی است که توسط یک غشای مولکولی احاطه شده است. ماده ژنتیکی می‌تواند DNA یا RNA باشد.

DNA یک مولکول دو رشته‌ای است که در همه‌ی ارگانیسم‌ها، مانند حیوانات، گیاهان و ویروس‌ها یافت می‌شود و کد ژنتیکی یا همان نقشه، برای نحوه ساخت و رشد این موجودات را دربردارد.

RNA یک مولکول تک‌رشته‌ای است که بخش‌هایی از کد ژنتیکی را از طریق، رونویسی و انتقال به پروتئین تبدیل می‌کند تا بتواند عملکردهایی تولید کند که ارگانیسم‌ها را زنده و در حال توسعه نگه‌می‌دارد. اشکال مختلفی از RNA وجود دارد که کپی‌برداری، رونویسی و انتقال را انجام می‌دهند.

بعضی از ویروس‌ها مانند Coronavirus فقط حاوی RNA هستند، به این معنی که برای تکثیر و زنده ماندن به سلول‌های سالم متکی هستند. هنگامی که داخل سلول می‌شوند، ویروس از کد ژنتیکی خود RNA در مورد Coronavirus برای کنترل و "برنامه نویسی" سلول‌ها استفاده می‌کند تا آنها به کارخانه‌های تولید ویروس تبدیل شوند.

برای اینکه ویروسی مانند Coronavirus در بدن با استفاده از RT-PCR (real time) تشخیص داده شود، دانشمندان باید RNA را به DNA تبدیل کنند. این فرآیندی است به نام "رونویسی معکوس". آنها این کار را انجام می‌دهند؛ زیرا فقط DNA می‌تواند کپی شده یا تکثیر شود که بخش مهمی از فرآیند RT-PCR برای تشخیص ویروس‌ها است.

بدین ترتیب بخش خاصی از DNA ویروس رونویسی شده صدها هزار بار تکثیر می‌شود. فرآیند تکثیر مهم است به طوری که به جای تلاش برای یافتن مقدار کمی از ویروس در بین میلیون‌ها رشته اطلاعات ژنتیکی، مقدار کافی از بخش‌های هدف DNA ویروسی برای تأیید دقیق وجود ویروس در اختیار خواهد بود.

RT-PCR (real time) درباره‌ی تشخیص Coronavirus چگونه کار می‌کند؟

نمونه‌ای از قسمت‌هایی از بدن مانند بینی یا گلوی فرد که کروناویروس در آنجا جایگزین می‌شود، جمع‌آوری می‌گردد. این نمونه با چندین محلول شیمیایی تیمار می‌شود که موادی مانند پروتئین‌ها و چربی‌ها را از بین می‌برند و فقط RNA موجود در نمونه را استخراج می‌کند. این RNA استخراج شده ترکیبی از مواد ژنتیکی شخص و در صورت وجود، RNA کروناویروس است.

RNA با استفاده از آنزیم خاصی به DNA رونویسی می‌شود. سپس قطعات کوتاه DNA دیگری اضافه می‌شود که مکمل قسمت‌های خاصی از DNA ویروس رونویسی شده هستند. اگر این ویروس در یک نمونه موجود باشد، این قطعات خود را به قسمت‌های هدف DNA ویروسی متصل می‌کنند. برخی از قطعات ژنتیکی اضافه شده برای ساختن رشته‌های DNA طی تکثیر هستند، در حالی که برخی دیگر برای ساخت DNA و اضافه کردن برچسب‌های نشانگر به رشته‌ها هستند؛ که بعد از این مرحله برای تشخیص ویروس استفاده می‌شوند.

سپس این مخلوط در دستگاه RT-PCR قرار می‌گیرد. دستگاه از طریق تغییرات دمایی که با گرم کردن و خنک کردن مخلوط انجام می‌شود، واکنش‌های شیمیایی خاصی را ایجاد می‌کند که نسخه‌های یکسان و جدیدی از قسمت‌های هدف DNA ویروسی ایجاد می‌شود. این چرخه بارها و

بارها تکرار می‌شود تا کپی‌برداری از قسمت‌های هدف DNA ویروسی ادامه یابد. هر چرخه مقدار قبلی را دو برابر می‌کند؛ دو نسخه تبدیل به چهار، چهار نسخه می‌شود هشت و غیره.

راه‌اندازی استاندارد RT-PCR در زمان واقعی معمولاً از ۳۵ چرخه عبور می‌کند، به این معنی که با پایان مراحل، حدود ۳۵ میلیارد نسخه جدید از بخش‌های DNA ویروسی از هر رشته‌ی موجود در نمونه ایجاد شده است.

با ساخت نسخه‌های جدید بخش‌های DNA ویروسی، برچسب‌های نشانگر به رشته‌های DNA متصل می‌شوند و رنگ فلئورسنت آزاد می‌کنند، که توسط رایانه دستگاه اندازه‌گیری می‌شود و در زمان واقعی روی صفحه نمایش داده می‌شود. کامپیوتر میزان فلئورسانس موجود در نمونه را بعد از هر دوره را ردیابی می‌کند. هنگامی که مقدار بیش از حد مشخصی از فلئورسانس باشد، این تأیید می‌کند که ویروس مورد نظر در نمونه وجود دارد. همچنین برای برآورد شدت عفونت تعداد چرخه‌ی لازم برای رسیدن به این سطح فلئورسانس را مشاهده می‌کنند؛ هرچه چرخه کمتر باشد، عفونت ویروسی شدیدتر است.

چرا از RT-PCR (real time) استفاده می‌کنیم؟

تکنیک RT-PCR (real time) بسیار حساس و خاص است و می‌تواند تشخیص قابل اعتماد را به سرعت به مدت سه ساعت انجام دهد، اگرچه معمولاً در آزمایشگاه‌ها بین ۶ تا ۸ ساعت طول می‌کشد. در مقایسه با سایر روش‌های شناسایی ویروس موجود، RT-PCR (real time) به طور قابل توجهی سریعتر است و از پتانسیل کمتری برای آلودگی یا خطا برخوردار است؛ زیرا کل فرآیند را می توان در یک لوله بسته انجام داد. این همچنان دقیق‌ترین روش موجود برای تشخیص کروناویروس است.

برای شناسایی عفونت‌های قبلی، که برای درک و گسترش ویروس مهم است، از RT-PCR (real time) نمی‌توان استفاده کرد؛ زیرا ویروس‌ها فقط در یک بازه‌ی خاص زمانی در نمونه‌های مخاطی یا سایر نمونه‌های کلینیکی منتشر می‌شوند.

قیاسی در باب روش‌های تشخیصی مبتنی بر PCR

PCR روشی آنزیمی برای تولید نسخه‌های بی شماری از یک ژن با جدا کردن دو رشته DNA حاوی قطعه ژن، علامت‌گذاری محل آن با پرایمر و استفاده از DNA پلیمراز برای جمع‌آوری یک نسخه در کنار هر بخش است و به طور مداوم رونوشت‌ها را کپی می‌کند. این روش به طور گسترده‌ای برای تکثیر مواد بیولوژیکی در مقادیر اندک مورد استفاده قرار می‌گیرد تا نمونه‌های کافی برای مطالعه‌ی آزمایشگاهی فراهم شود. با توجه به طیف گسترده‌ای از کاربردهای آن، حساسیت بالا و اختصاصیت بالای توالی، روش‌های مبتنی بر PCR به یک روش معمول و قابل اعتماد برای تشخیص کرونا ویروس‌ها تبدیل شده است.

به طور کلی، RNA کروناویروس با رونویسی معکوس به cDNA منتقل می‌شود. پس از آن، PCR صورت گرفته و سپس محصول آن از از طریق روش‌ها یا ابزارهای تشخیصی خاص بررسی می‌شود. در این میان، بررسی ژن (توسط نرم افزار مربوط) و تعیین توالی پس از PCR روش‌های مرسوم برای تشخیص کرونا ویروس‌ها است. اما به دلیل فرایند وقت‌گیر و هزینه زیاد، این روش‌ها معمولاً در نمونه‌های بالینی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. RT-PCR (Real-time reverse transcriptase-PCR) به دلیل مزایای آن به عنوان یک روش خاص و ساده، در حال حاضر برای تشخیص کروناویروس بسیار پرطرفدار است. علاوه بر این، حساس تر از روش RT-PCR معمولی است، که برای تشخیص در عفونت زودرس بسیار کمک می‌کند. بنابراین، این نوع سنجش RT-PCR هنوز روش اصلی است که برای تشخیص انواع ویروس‌های کروناویروس‌ها از جمله SARS-CoV-2 استفاده می‌شود.

با این وجود، تلاش‌های گسترده‌ای برای بهبود روش RT-PCR انجام می‌شود. از آنجا که روش‌های RT-PCR مستعد آلودگی هستند و نیاز به نمونه برداری در آنِ زمان و تجزیه و تحلیل پس از PCR دارند، van Elden و همکاران، real-time RT-PCR مبتنی بر TaqMan[1] را توصیف کرند که به راحتی برای تشخیص HCoV قابل اجرا است. علاوه بر این، برای بهبود بیشتر حساسیت، Yip و همکاران یک روش سنجش real-time RT-PCRبرای SARS-CoV با استفاده از ۲ پروب TaqMan ، به جای ۱ پروب طراحی کردند. این اصلاح ساده با استفاده از پروب‌های TaqMan دوگانه برای تعیین کمیت، دارای کاربردهای گسترده‌ای در مناطقی است که به شدت حساسیت لازم است، با حد تشخیص ۱ کپی از SARS-CoV RNA در هر واکنش.

در تشخیص بالینی، فقدان کنترل مثبت و پایدار خارجی (EPC) می تواند به یک مشکل جدی در تشخیص کروناویروس تبدیل شود و توجه زیادی به رفع این مشکل شده است. با این حال، از چنین مشکلی می‌توان به خوبی در سنجش real-time RT-PCR که EPC یک جزء مهم است، اجتناب کرد. Yu و همکاران یک آزمایش real-time RT-PCR ایجاد کردند که در آن از armored RNA (RNA؛ یعنی RNA مهندسی شده با فاژ که غیرعفونی است) به عنوان EPC برای تشخیص SARS-CoV استفاده می‌شد، با حد تشخیص ۱۰ نسخه در هر میلی‌لیتر.

در همین حال، کرونا ویروس‌ها که به دلیل ماهیت‌شان دائما در حال جهش هستند، نیاز به تشخیص دقیق انواع ژنتیکی آن را برجسته می‌کند. بنابراین، برای بهبود توانایی تشخیص کروناویروس به طور دقیق و کاهش خطر ایجاد نتایج منفی کاذب ناشی از تغییرات توالی ژنوم، محققان روش real-time RT-PCR را با حساسیت مطلوب برای تشخیص چند منظوره کروناویروس ایجاد کرده‌اند. Hadjinicolaou و همکاران یک روش real-time RT-PCR را با استفاده از یک نشانگر فلئورسنت مولکولی که نسبت به عدم تطبیق بازها حساس نبود (در انواع توالی‌ها که سریعا در حال جهش هستند) برای تمایز بین سویه‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا

توسعه داد. این روش شامل چهار نشانگر فلئورسنت، چهار ژن برای هدف‌گذاری و یک کنترل مثبت داخلی است. با استفاده از نمونه‌های بالینی مثبت، که شناسایی هدف در آن‌ها انجام شده بود، اعتبارسنجی شد؛ حساسیت آن تشخیص ۵ نسخه کپی در هر واکنش است.

شناسایی ویروس کرونای نوظهور ۲۰۱۹ (nCoV-2019) درمـوارد مشکوک انسانی توسط RT-PCR

این پروتکل برای شناسایی nCoV-2019 در نمونه‌های بالینی انسان طراحی شده است. این دو روش تشخیص مونوپلکس شرح داده شده در اینجا با ویروس‌های کرونای زیر رده‌ی Sarbecovirus شامل coronaviruses nCoV-2019، SARS-CoV کروناویروس های SARS مانند خفاش واکنش‌پذیر است.

اساس استفاده از این روش تشخیصی عبارتند از: ۱) تنوع ژنتیکی nCoV-2019 در انسان و حیوانات هنوز به نظر نمی‌رسد کاملاً مشخص باشد و ۲) بسیاری از آزمایشگاه‌ها کنترل مثبت برای nCoV-2019 را در اختیار ندارند. Rna ویروسی استخراج شده از SARS-CoV می‌تواند در پژوهش‌های زیر به عنوان یک کنترل مثبت استفاده شود.

به دلیل اینکه SARS در انسان از بین رفت، موارد مشکوک که در آزمایش‌های RT-PCR مثبت هستند باید اینچنین در نظر گرفته‌شوند که توسط nCoV-2019 آلوده شده‌اند.

N gene RT-PCR به عنوان یک روش غربالگری و Orflb به عنوان یک روش تاییدکننده توصیه می‌شود.

در صورت نتیجه‌ی مثبت PCR، تجزیه و تحلیل توالی از amplicons (امپلیکون ؛ یک قطعه از دی.ان.ای یا آر.ان.ای است که منبع و یا محصول طبیعی یا مصنوعی رخدادهای تکثیری و همانندسازی (amplification & replication) است.) به تایید بیشتر نتیجه و تمایز بین SARS-CoV و nCoV-2019 کمک می‌کند. نتیجه N gene مثبت/ orflb منفی باید نامشخص در نظر گرفته شده و توصیه می شود که این مورد به آزمایشگاه مرجع WHO برای آزمایش بیشتر ارجاع داده شود.

این آزمایش‌ها با استفاده از پنلی از کنترل ها ارزیابی شده و تنها کنترل مثبت (SARSCoV RNA) در این سنجش ها مثبت است.

الیگونوکلئوتیدهای مصنوعی کنترل مثبت یا معادل آن‌ها برای nCoV-2019 در حال حاضر در دسترس نیست اما به زودی در دسترس خواهد بود. برای سروکار داشتن با نمونه‌های بالینی انسان مشکوک به عفونت nCoV-2019، باید از اقدامات ایمنی زیستی مناسب استفاده کرد.

ساخت کیت تشخیص کرونا در آزمایشگاه

مواد مورد نیاز

- QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN, Cat#52906)یا معادل آن
- مخلوط TaqMan Fast Virus Master (TheromFisher, Cat# 4444432)
- اتانول (۹۶ـ۱۰۰٪)
- پلیت واکنش MicroAmp Fast Optical 96-wel (TheromFisher)
- فیلم چسب نوری MicroAmp (TheromFisher, Cat# 4346907)
- میکرو سانتریفیوژ (قابل تنظیم تا ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه)
- پیپت‌های قابل تنظیم (۱۰ ، ۲۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ میکرولیتر)
- pipette tips استریل و بدون RNase با مانع آئروسل
- vortex
- لوله‌های میکروسانتریفیوژ (۰/۵ میلی لیتر و ۱/۵ میلی لیتر)
- ترموسیکلر (TheromFisher, ViiA™ 7 Real-Time PCR)
- کنترل مثبت (موجود از HKU ، ایمیل: llmpoon@hkucc.hku.hk)

- مجموعه‌های پرایمر توالی‌های primer و probe

سنجش ۱ (هدف: ORF1b-nsp14)

پرایمر رفت ؛

(HKU-ORF1b-nsp14F): 5'-TGGGGTTTACRGGTAACCT-3

پرایمر برگشت؛

(HKU- ORF1b-nsp14R): 5'-AACRCGCTTAACAAAGCACTC-3

پروب؛

(HKU-ORF1b-nsp141P): 5'-FAM-TAGTTGTGATGCWATCATGACTAG-TAMRA-3"

سنجش ۲ (هدف: N)

پرایمر رفت؛

(HKU-NF): 5'-TAATCAGACAAGGAACTGATTA-3 '

پرایمر برگشت؛

(HKU-NR): 5'-CGAAGGTGTGACTTCCATG-3 '

پروب؛

(HKU-NP): 5'-FAM-GCAAATTGTGCAATTTGCGG-TAMRA-3 "

روش کار

۱. RNA ویروسی را از نمونه‌های بالینی با استفاده از مینی‌کیت QIAamp QNAamp مطابق با دستورالعمل کارخانه‌ی آن استخراج کنید

۲. مخلوط master را برای RT-PCR تک مرحله ای به شرح زیر آماده کنید.

Reagent	Vol for a single rxn (µl)
H_2O (RNase free)	8.5
4x Reaction mix*	5
Forward primer (10 µM)	1
Reverse primer (10 µM)	1
Probe (10 µM)	0.5
RNA sample	4
Final rxn volume	20

*Reaction mix from TaqMan Fast Virus Master mix

۳. شرایط را برای RT-PCR به صورت زیر آماده کنید.

Temperature (°C)	Time (minute:second)	No. of cycle
50 95	5:00 0:20	1
95 60	0:05 0:30	40

*Both monoplex assays can be conducted under the same conditions.

ارزیابی

کنترل‌های مثبت: آزمون‌ها با استفاده از نمونه‌های RNA رقیق شده چندباره استخراج شده از سلول‌های آلوده SARS-CoV ارزیابی شدند. این سنجش‌ها دارای محدوده دینامیکی گسترده‌ای هستند. تنفس فوقانی و نمونه‌های خلطی که با SARS-CoV مشخص شده‌اند ، در آزمایش مثبت هستند.

[1] TaqMan probes are hydrolysis probes that are designed to increase the specificity of quantitative PCR.

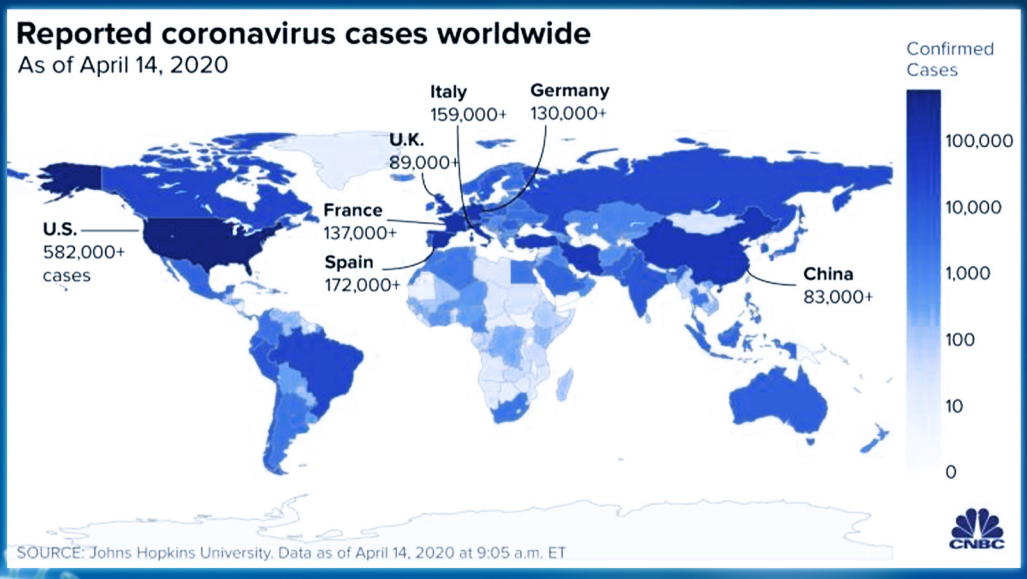
[2] چراغ‌های مولکولی مویی شکل با قابلیت فلئورسانس خاموش داخلی، که فلورسانس آنها هنگام اتصال به دنباله‌ی اسیدنوکلئیک مورد نظر عیان می‌گردد. این یک روش نوین غیر رادیواکتیو برای تشخیص توالی‌های خاص اسیدهای‌نوکلئیک است.

منابع:

Resources

(https://www.who.int/health-topics/coronavirus/laboratorydiagnostics-for-novel-coronavirus).

https://www.worldometers.info/coronavirus/



https://www.bloomberg.com/graphics/2020-coronavirus-cases-world-map/

Thank you corona virus helpers

genophil_scu
genophil_scu

https://www.google.com/covid19/