



GeneDia

شرکت ژرفانگاران دنیای تشخیص

عنوان سند : دستورالعمل تولید (SOP) کیت استخراج cf-DNA به روش
مگنتی

شرح تغییرات	تاریخ ویرایش	شماره ویرایش
تدوین اولیه بر اساس ISO13485:2016	۱۴۰۳/۱۱/۴	۰۰

تهیه کننده	تأیید کننده	تصویب کننده
سمت: مسئول تضمین کیفیت نام و امضاء :	سمت: نماینده مدیریت نام و امضاء :	سمت: مدیرعامل نام و امضاء :
تاریخ: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹	تاریخ:	تاریخ:

۱- هدف :

هدف از تهیه و بکارگیری این دستورالعمل تشریح فعالیت‌های مربوط به اجرای فرآیندهای تولید کیت استخراج سل فری به روش مگنتی و خودکنترلی آن براساس طرح کیفیت و برنامه کنترل محصول تحت شرایط کنترل شده و نیز طرح ریزی، استقرار و کنترل زیر ساخت‌ها می‌باشد.

۲- دامنه کاربرد :

این دستورالعمل شامل تهیه و کنترل کیفی کلیه مواد اولیه مورد نیاز کیت استخراج سل فری به روش مگنتی و فرآیندهای تولیدی کیت و کنترل کیفی آن می‌باشد.

۳- تعاریف :**۳-۱- فرآیندهای خاص / ویژه :**

فرآیندهایی است که نتوان خروجی آن را بعد از بازرسی بعدی مورد تصدیق قرار داد و نارسایی محصول این فرآیند پس از مورد استفاده قرار گرفتن ظاهر می‌گردد. این فرآیندها، فرآیندهایی است که احراز شرایط قبلی در مورد کارایی فرآیند آنها ضروری است

۳-۲- JOB – SETUP : برنامه مشخصی برای راه اندازی فرایند تولید (ماشین آلات) می‌باشد.

۳-۳- SOP (Standard Operating Procedure) : رویه عملیاتی استاندارد

صحه گذاری تمام فرآیندها و خصوصاً این فرآیندها باید درحیطه فعالیت های کنترل تولید قرار گیرد.

۴- شرح عملیات :

نکته ۱: هر ماده مصرفی یا هر ماده اولیه باید طبق دستورالعمل اجرایی انبار مربوطه با کد p06 از انبار خارج شود.

نکته ۲: تمامی کنترل کیفیت ها براساس روش اجرایی کنترل کیفیت با کد p04 ارزیابی می‌شود .

نکته ۳: تمامی لیبل گذاری ها براساس روش شناسایی و ردیابی محصول با کد p07 انجام می‌شود .

۴-۱- تولید و کنترل کیفی Cf-DL :

این بافر برای لیز مواد موجود درنمونه ها می‌باشدکه مواد اولیه آن شامل:

نام بافر	غلظت	ماده	مقدار به ازای ۱۰۰ سی سی	مقدار به ازای یک لیتر	برند مواد	PH نهایی
DVLB	1.5M	گوانیدین هیدروکلراید	14.3 گرم	143 گرم	Sigma	7.5-8
	30mM	تریس-HCL	0.4 گرم	4 گرم	Merck	
	40mM	EDTA	1.1 گرم	11 گرم	Merck	
	20mM	Mgcl2	0.4 گرم	4 گرم	Merck	
	1M	پتاسیم استات	9.8 گرم	98 گرم	Neutron	
	1M	آمونیم استات	7.7 گرم	77 گرم	Neutron	
	5%	Tween-20	5 سی سی	50 سی سی	Neutron	
	5%	Triton-x100	5 سی سی	50 سی سی	Merck	

➤ هر یک را با ترازو با دقت ۰/۰۱ به صورت جداگانه اندازه گیری کرده و داخل یک بالن ژوژه ی ۱۰۰ سی سی شیشه ای میریزیم. سپس با آب مقطر کمی مواد را حل میکنیم.

* نکته: توصیه می شود هر یک از مواد را به صورت جداگانه و تک تک مقداری حل کرده و سپس با یکدیگر مخلوط شود.

* نکته: آب مقطر مورد استفاده باید آب مقطر دوبار تقطیر باشد.

- **هشدار ۱:** از کالیبر بودن ترازو اطمینان حاصل شود. بر روی ترازو مورد استفاده باید برچسب کالیبراسیون زده شده باشد. همچنین ترازو باید دارای برگه تایید کالیبراسیون از طرف شرکت سازنده باشد.
- **هشدار ۲:** بالن ژوژه را از قبل شسته سپس با آب مقطر کُر میدهیم و اجازه میدهیم تا کاملا خشک شود.
- **هشدار:** استوانه مدرج باید کاملا تمیز و خشک باشد.

➤ پس از حل شدن مواد بالن ژوژه حاوی مواد ترکیب شده را به مدت ۷ الی ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه درون یک انکوباتور قرار می دهیم. این مرحله برای اطمینان حاصل کردن از حل شدن کامل مواد داخل بالن ژوژه است.

- **هشدار:** درب بالن ژوژه را محکم کرده و قبل از گذاشتن در انکوباتور با پارافیلیم به طور کامل می پوشانیم

➤ پس از ۷ الی ۸ ساعت مواد داخل بالن را با آب مقطر به حجم ۱ لیتر میرسانیم.

- **هشدار:** استفاده از ظروف مدرج دیگر نظیر ارلن برای به حجم رساندن توصیه نمی شود چراکه بالن ژوژه دقیق تر می باشد.

➤ بار دیگر به مدت ۲۴ ساعت دیگر آن را داخل انکوباتور ۳۷ درجه می گذاریم.

• هشدار : دمای انکوباتور حتما به طور مداوم کنترل شود. دما باید بر روی ۳۷/۵ درجه ثابت باشد.

➤ در نهایت مواد داخل بالن ژوژه را درون یک بطری تمیز و خشک HDPE (High Density Polyethylene) قهوه ای رنگ که قبلا به مدت ۲۰ دقیقه در معرض اشعه UV قرار گرفته است انتقال می دهیم.

• هشدار ۱: بطری های HDPE ، مقاوم در برابر ضربه، و سد خوبی در برابر رطوبت می باشند بنابراین از تغییر ماهیت بافر لیز جلوگیری می کنند.

• هشدار ۲: ظرف مورد استفاده برای استوک این بافر باید قهوه ای رنگ باشد تا بافر را دور از معرض نور قرار دهد. از محکم بودن در بسته اطمینان حاصل شود.

➤ در نهایت تا زمان استفاده این بافر را در دمای اتاق نگهداری می کنیم.

کنترل کیفی بافر لیز Cf-DL شامل موارد زیر می باشد:

۱. رنگ این بافر در انتهای آماده سازی باید زرد کم رنگ باشد.

۲. پس از در آوردن بالن ژوژه از انکوباتور بعد از ۲۴ ساعت، بافر موجود باید کاملا شفاف باشد..

۳. پس از سرد شدن بافر هیچگونه رسوبی نباید مشاهده شود.

* نکته: در صورت حل نشدن رسوب در این مرحله می توان به مدت ۲۴ ساعت دیگر بافر را درون انکوباتور قرار داد.

۴. به وسیله pH متر دیجیتال با دقت ۰/۰۱ pH آن را اندازه گیری کرده و در صورت نیاز با افزودن محلول قلیایی یا اسیدی قوی به بافر pH آن را بر روی عدد ۸ تثبیت می کنیم.

• هشدار ۱: از کالیبر بودن pH متر اطمینان حاصل پیدا کنید.

• هشدار ۲: الکتروود pH متر باید کاملا تمیز و بدون رسوب باشد.

• هشدار ۳: توصیه میشود برای تنظیم pH از 1 NaOH مولار و HCl ۳۰ درصد استفاده شود.

به ازای ۱۰۰ سی سی بافر ۵ نمونه مایع بیولوژیکی، نمونه ی بافت یا هر نوع نمونه ای که امکان استخراج ویروس از آن وجود دارد را با ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیز ترکیب کرده به نسبت ۱ به ۱ (مطابق با دستورالعمل اجرایی کیت) با بافر مخلوط میکنیم. ۱۰ میکرولیتر از آن را گذاشته و اسمیر تهیه می شود. ۱۰ میکرولیتر دیگر نیز از همان منبع استخراج ویروسی بدون ترکیب کردن با بافر بر روی لام می گذاریم و اسمیر تهیه می کنیم. این لام همان لام کنترل می باشد. سپس با متانول هر دو لام را فیکس میکنیم. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه با رنگ هماتوکسلین اتوزین رنگ آمیزی میکنیم و پس از شستشو با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰۰، درصد دبری های

سلولی (Debris) را محاسبه می کنیم در صورت حضور ۹۵ درصد دبری های سلولی و یا بالاتر از آن در لام نمونه، عملکرد بافر لیزاز نظر کنترل کیفیت داخلی قابل قبول است.

۴-۱- تولید و کنترل بافر Cf-Mag:

نانوذره مربوط به این محصول با استفاده از دستورالعمل WT05-P15 انجام شد. پس از سنتز و کنترل کیفیت طبق دستورالعمل زیر انجام می شود.

۱- ۰.۵ گرم نانوذره آهن (Fe 3 o 4 Sio 2) در ۱۲۵ میلی لیتر اتانول ۸۶٪ حل شود.

۲- به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سونیکه شود.

۴-۲- فرآیند آماده سازی محصول نهایی :

پس از تهیه تمامی بافر ها به حالت استوک اقدام به آماده سازی و بسته بندی کیت نمایید.

۴-۲-۱- **بطری ها:** هر یک از بافرها باید به صورت مجزا درون بطری های متناسب با مقدار بافرها برای انجام ۵۰ آزمایش ریخته شوند به طوری که با استفاده از دیسپنسر بافر Cf-DL به حجم ۱۵ میلی لیتر را درون بطری سفید رنگ به حجم ۱۵ میلی لیتر ، DL به حجم ۱ میلی لیتر را درون میکروتیوب در پیچ دار به حجم ۲ میلی لیتر ریخته و سپس روی هر بطری لیبل مخصوص همان بافر متشکل از نام ، تاریخ تولید و انقضاء ، لات نامبر ، حجم و دمای نگهداری بافر، را میزنیم.

• **هشدار:** بر روی دیسپنسر مورد استفاده باید برچسب کالیبراسیون زده شده باشد. همچنین دیسپنسر باید دارای برگه تایید کالیبراسیون از طرف شرکت سازنده باشد.

• ۴-۲-۲- اسمبل کردن و بسته بندی محصول:

* نکته: تمامی مراحل بسته بندی و آماده سازی نهایی کیت باید در حضور مسئول تضمین کنترل کیفی محصول نهایی صورت گیرد.

۱. پاکت آلومنیومی آزمایشگاهی به ابعاد ۱۸ در ۱۵ محصول : پس از اسمبل کردن پاکت آلومنیومی آزمایشگاهی ، بر روی پاکت خام محصول باید لیبل اصلی محصول متشکل از نام محصول، تاریخ تولید و انقضای محصول چسبانده شده باشد.

۲. دررانتها پس از بستن پاکت باید یک برچسب QC در پشت پاکت و لیبل BOX روی پاکت آلومنیومی قرار گیرد .

۴-۲-۳- فرآیند مدیریت محصول نهایی:

پس از آماده سازی محصول نهایی، به روش زیر به فروش میرسد:

۱. کیت بسته بندی شده و QC خورده پس از سفارش مشتری، مستقیماً به مشتری تحویل داده می شود.

* فروش محصول نهایی بر عهده مسئول فروش می باشد.

۵- مسئولیت :

مسئولیت تولید محصول بر عهده مدیر برنامه ریزی و تولید است. مسئولیت نظارت بر تولید و کنترل کیفیت بر عهده مدیر تضمین کیفیت و مسئول کنترل کیفیت است.

۶- مستندات و پیوست های مربوطه :

۱-۶- فرم نمودار فرآیند عملیات (OPC) F01-P22

۲-۶- فرم انجام پاکیزگی و آراستگی محیط کار بر اساس W03-P22(5S)

۳-۶- فرم برنامه ریزی و گزارش روزانه/ هفتگی تولید F02-P15

۴-۶- برای اطمینان حاصل کردن از درستی عدد pH باید به چند نکته دقت کرد :

- در صورت تکرار کردن اندازه گیری pH برای ۸ تا ۱۰ نمونه شیمیایی جدا شده از یک استوک یکسان، انحراف معیار به دست آماده از مقدار های اندازه گیری شده باید $\pm 0/01$ باشد که این عدد نشان دهنده ی دقت دستگاه pH متر می باشد.
- صحت pH متر دیجیتال را با استفاده از یک کنترل اسیدی و بازی تایید کنید بدین صورت که یک نمونه بافر با pH معلوم، یک نمونه اسیدی (برای مثال HCl) و یک نمونه قلیایی (برای مثال NaOH) را با pH متر دیجیتال اندازه بگیرید. pH بافر نمونه باید در بازه مورد انتظار همان بافر ، pH اسیدی در بازه ۴-۶ و pH قلیایی باید در بازه ۱۶-۱۲ خوانده شود.