

خطرات و پیشگیری:

- ۱- پرسنل آزمایشگاه باید با روند و خطرات احتمالی آشنایی کامل داشته باشند و برای انجام آزمایش، حفاظت فردی و جلوگیری از پخش آلودگی آموزش دیده باشند.
- ۲- تمامی نمونه‌ها باید به صورت بالقوه عفونی در نظر گرفته شوند. آزمایش‌ها باید در هود لامینار فلو کلاس II انجام شود. پرسنل آزمایشگاه باید ملزومات حفاظت شخصی شامل گان، پاپوش، کلاه، عینک، شیلد و دستکش بدون پودر استفاده کنند. دستکش‌ها مرتباً تعویض شوند تا از انتقال آلودگی بین نمونه‌ای جلوگیری شود.
- ۳- تمام وسایل استفاده شده برای آزمایش باید استریل، RNase free و DNase free باشند.
- ۴- از افزودن مستقیم هیپوکلریت سدیم به مواد دفعی روند استخراج خودداری شود.

آماده سازی معرف ها:

- * آماده سازی RNA Carrier: (با استفاده از دستکش و در محل مناسب و استریل انجام شود)
- به ویال حاوی RNA Carrier، ۱۰۰۰ میکرولیتر Elution Buffer افزوده، ورتکس نمایید تا کاملاً حل شود. RNA Carrier بعد از حل شدن در Elution Buffer باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. از فریز و ذوب بیش از ۳ بار محلول ذکر شده جلوگیری گردد.
- توصیه می‌شود RNA Carrier حل شده در Elution Buffer در چند میکروتیوب الیکوت شود تا از فریز و ذوب شدن چند باره جلوگیری گردد.
- * به ازای هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر RNA Carrier به ۲۵۰ میکرولیتر Lysis Buffer اضافه شود. (محلول تازه تهیه شود).

مراحل انجام تست:

- * جدول راهنمای تهیه Lysis Buffer در برگ بعدی پیوست شده است.
- ۱- ۲۵۰ میکرولیتر Lysis Buffer (ویال A) که با RNA Carrier غنی شده است) به ازای هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر RNA Carrier به ۲۵۰ میکرولیتر Lysis Buffer اضافه شود. به ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه افزوده شود. میکروتیوب را ۳ بار زیر و رو نموده و سپس در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه انکوبه گردد.
 - ۲- ۲۵۰ میکرولیتر Absolute Ethanol (در کیت قرار دارد) به محلول بالا اضافه شود.
 - ۳- Filter tube را روی Collection tube قرار داده و مواد بالا روی Filter tube ریخته شود. به مدت ۱ دقیقه با دور ۸۰۰۰rcf (g) یا ۱۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردد. Collection tube و محتویاتش دور انداخته شود.
 - ۴- ۵۰۰ میکرولیتر Inhibitor Removal Buffer (ویال B) روی Filter tube افزوده شود. به مدت ۱ دقیقه با دور ۸۰۰۰rcf (g) یا ۱۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردد. Collection tube و محتویاتش دور انداخته شود.
 - ۵- ۴۵۰ میکرولیتر Wash Buffer 1 (ویال C) روی Filter tube افزوده شود. به مدت ۱ دقیقه با دور ۸۰۰۰rcf (g) یا ۱۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردد. Collection tube و محتویاتش دور انداخته شود.
 - ۶- ۴۵۰ میکرولیتر Wash Buffer 2 (ویال D) روی Filter tube افزوده شود. به مدت ۲ دقیقه با دور ۸۰۰۰rcf (g) یا ۱۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردد. Collection tube و محتویاتش دور انداخته شود.
 - ۷- ۱۰۰ میکرولیتر Elution Buffer (ویال E) دقیقاً در مرکز Filter tube که روی میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری RNase free DNase free قرار داده شده، افزوده شود. یک دقیقه زمان داده شده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۸۰۰۰rcf (g) یا ۱۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردد. Filter tube دور انداخته شود.
 - ۸- نوکلئیک اسید ویروس درون میکروتیوب استخراج شده است. در صورتی که ماده ژنتیکی استخراج شده سریعاً برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. از ذوب و فریز شدن بیش از یکبار ماده ژنتیکی استخراج شده جلوگیری شود.

مورد استفاده:

این کیت جهت استخراج RNA ویروس کرونا با استفاده از روش ستونی برای محیط انتقال ویروس طراحی گردیده است.

محتویات کیت:

ردیف	محتویات کیت	میزان
۱	Lysis Buffer	۳۰ میلی لیتر
۲	Inhibitor Removal Buffer	۵۵ میلی لیتر
۳	Wash Buffer 1	۵۰ میلی لیتر
۴	Wash Buffer 2	۵۰ میلی لیتر
۵	Elution Buffer	۱۳ میلی لیتر
۶	RNA Carrier (lyophilized)	۲ میلی گرم
۷	Filter Tube	۱۰۰ عدد
۸	Collection Tube	۴۰۰ عدد
۹	Absolute Ethanol	۳۰ میلی لیتر

مواد و تجهیزات مورد نیاز:

هود لامینار فلو کلاس II ، Heating Block (Dry Bath Incubator) ، سانتریفیوژ، ورتکس میکسر، میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری RNase free DNase free، سمپلر متیتر (۱۰۰-۱۰۰۰) و (۱۰۰۰-۱۰۰۰۰) میکرولیتری و سرسمپلر فیلتردار متناسب با سمپلرها.

شرایط نگهداری:

- * مدت زمان پایداری این کیت بدون کاهش کیفیت قبل از باز شدن ۲۴ ماه و پس از باز شدن ۱۸ ماه می‌باشد.
- * کیت باید در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

موارد استفاده از محصول استخراج شده با کیت:

ماده ژنتیکی استخراج شده با این کیت قابلیت استفاده در فرآیند فرودستی RT-PCR را دارد.

مشخصات نمونه:

- ۱- نوع نمونه: محیط انتقال ویروس.
- ۲- شرایط نمونه‌گیری: جمع آوری و نگهداری نمونه طبق پروتکل‌های منحصر به نمونه صورت پذیرد.
- ۳- نگهداری و انتقال نمونه: در صورتیکه آزمایش ظرف ۲۴ ساعت روی محیط انتقال ویروس صورت می‌پذیرد، نمونه در ۴ درجه سانتی‌گراد و در صورت نیاز به نگهداری طولانی‌تر در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شود.
- نمونه‌های فریز شده قبل از انجام تست در محیط قرار گرفته و پس از رسیدن به دمای محیط مورد آزمون قرار گیرند. از فریز و ذوب شدن نمونه بیش از یکبار جلوگیری شود.
- نمونه در زمان ارسال به آزمایشگاه باید در محفظه بسته و در مجاورت یخ انتقال داده شود.

کنترل کیفی:

تعداد ۴۰ نمونه مثبت و ۴۰ نمونه منفی با Ct های مختلف، همزمان با کیت استخراج COV-Extraction شرکت پیشداز طب و دستگاه اتوماتیک استخراج دارای مجوز مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج، همبستگی ۱۰۰٪ را نشان می‌داد.

در صورتیکه RNA استخراج شده دارای غلظت کم بود، جدول ذیل چند راهکار جهت رفع مشکل پیش آمده ارائه می‌کند.

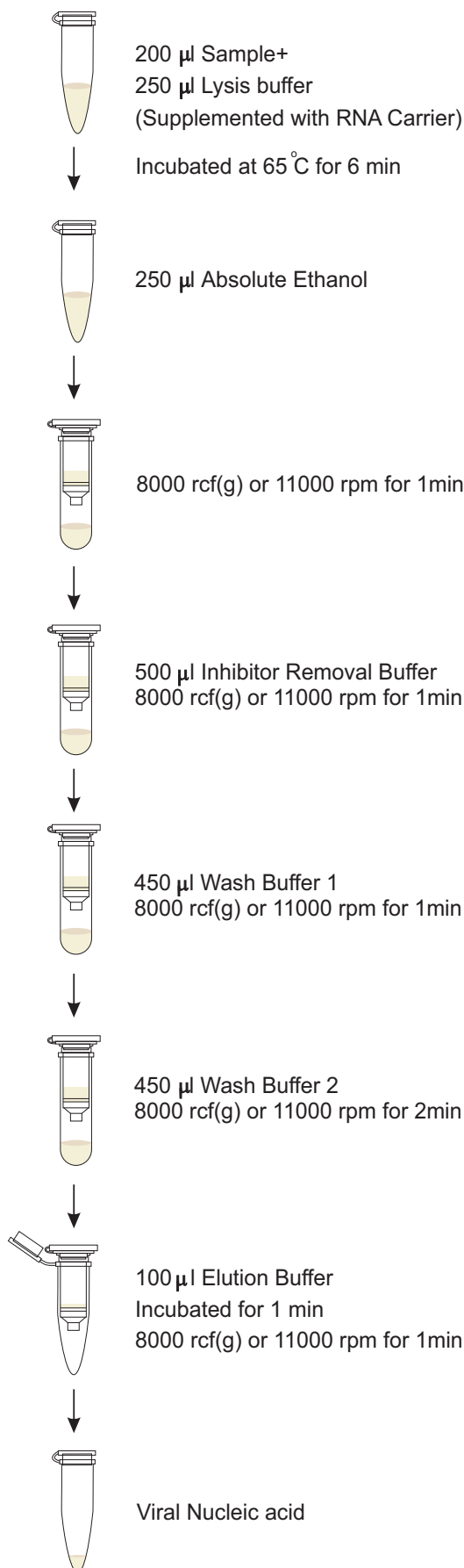
بافرهای کیت در دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. در صورت قرار گرفتن بافرها در دمای پایین‌تر و تشکیل رسوب، بافرها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا رسوب کاملاً حل شود. RNA Carrier پس از حل شدن در Elution Buffer در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود و از ذوب و فریز شدن بیش از ۳ بار جلوگیری به عمل آید. پس از هر بار استفاده، درب بافرها محکم بسته شود تا از تغییرات احتمالی و نفوذ آلودگی جلوگیری شود.	نگهداری اجزای کیت در شرایط نامناسب
پس از افزودن بافر Lysis به نمونه، میکروتیوب چند بار زیر و رو شود.	مخلوط نشدن کافی نمونه و بافر
در تمام مراحل کار از دستکش مناسب، سرسمپلر و میکروتیوب RNase Free استفاده گردد. در صورتیکه نیاز به نگهداری ماده ژنتیکی استخراج شده برای مدت طولانی است، ماده ژنتیکی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شود.	حضور RNase

References:

- 1-CLSI. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods. 2nd ed. CLSI guideline MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
- 2-CDC. Specimen collection guidelines. <http://www.cdc.gov/urdo/downloads/speccollectionguidelines.pdf>. Accessed 5 August 2020.
- 3-Lieberman D, Lieberman D, Shimoni A, Keren-Naus A, Steinberg R, Shemer-Avni Y. Identification of respiratory viruses in adults: nasopharyngeal versus oropharyngeal sampling. J Clin Microbiol. 2009;47(11):3439-3443.
- 4-CLSI. Laboratory Automation: Bar Codes for Specimen Container Identification; Approved Standard—Second Edition. CLSI document AUTO02-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- 5-Tan SC, Yiap BC. DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present [erratum appears in J Biomed Biotechnol. 2013;2013:628968]. J Biomed Biotechnol. 2009;2009:574398.
- 6-WHO. Global Alert and Response (GAR). Transport of infectious substances. http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_9/en/. Accessed 5 August 2020
- 7-Thatcher SA. DNA/RNA preparation for molecular detection. Clin Chem. 2015;61(1):89-99.
- 8-Enderle D, Spiel A, Coticchia CM, et al. Characterization of RNA from exosomes and other extracellular vesicles isolated by a novel spin column-based method. PLoS One. 2015;10(8):e0136133.



	Use by	تاریخ انقضاء
	Batch code	شماره سری ساخت
	Date of manufacture	تاریخ تولید
	Catalog number	شماره کاتالوگ
	Caution, consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولید کننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیست
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری



تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان پاس سوم، نیش خیابان یاسمن، پلاک ۱
کدپستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳ تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms۳۰۰۰۷۱۴۰۲



جدول راهنمای تهیه Lysis Buffer:

محلول تازه تهیه شود.

مقدار RNA Carrier (μl)	مقدار LysisBuffer(μl)	تعداد نمونه	مقدار RNA Carrier (μl)	مقدار LysisBuffer(μl)	تعداد نمونه
130	3250	13	10	250	1
140	3500	14	20	500	2
150	3750	15	30	750	3
160	4000	16	40	1000	4
170	4250	17	50	1250	5
180	4500	18	60	1500	6
190	4750	19	70	1750	7
200	5000	20	80	2000	8
210	5250	21	90	2250	9
220	5500	22	100	2500	10
230	5750	23	110	2750	11
240	6000	24	120	3000	12

