کیت استخراج DNA ویروس HPV (۱۰۰)

HPV DNA Extraction Kit (100)

مورد استفاده:

این کیت جهت استخراج **DNA** ویروس **HPV** با خلوص بالا از نمونه‌های سیتولوژی، بلوک‌های بافتی، سواب واژینال و مایعات انسانی و حیوانی می‌باشد.

اساس و ویژگی‌ها:

این کیت استخراج بر پایه ستون سیلیکا می‌باشد. بافر لایز این کیت محتوی دترجنت، گواندین ایزوتیوسیانات و بافر می‌باشد. محلول‌های مرحله شستشوی این کیت حاوی گوانیدین هیدروکلراید و بافر می‌باشد. DNA استخراج شده می‌تواند برای اهداف مختلف از جمله هیبریداسیون معکوس و انواع روش‌های مبتنی بر PCR استفاده شود.

محتوای کیت:

شرایط نگهداری	مقدار	محتویات
دمای اتاق ۱۵_۲۵°C	22 ml	Lysis Buffer (LB)
	1x2 ml	Proteinase K (pk)
	30 ml	Binding Buffer (BB)
	40 ml	Wash Buffer1 (WB1)
	15 ml	Wash Buffer2 (WB2)
	20 ml	Elution Buffer (EB)
	2x50	Column
	2x100	Collection tube

شرایط نگهداری:

این کیت در دمای اتاق و دور از تابش مستقیم نور آفتاب به مدت دو سال پایدار می‌باشد.

مواد و دستگاه های مورد نیاز:

Adjustable Volume Pipette
Biosafety cabinet
Vortex spin
Nuclease free free filter tips
Desktop micro centrifuge (14,000 x g)
RNAse free sterile micro tube
Biohazard waste container
Absolut ethanol
Single-use glove

هشدار و اقدامات احتیاطی:

• این دستورالعمل برای پرسنل آموزش دیده برای انجام آزمایشات مولکولی تدوین شده است. لطفاً قبل از شروع کار دستورالعمل با دقت خوانده شود.

• نمونه‌ها باید به عنوان مواد عفونی بالقوه در نظر گرفته شوند و در زیر هود لامینار آماده سازی شوند.

• به تاریخ انقضا کیت توجه شود.

• همیشه از نوک سمپلر فیلتردار استفاده شود.

احتیاط: محلول‌های سفید کننده یا اسیدی را مستقیماً به پسماندهای آماده سازی نمونه اضافه نکنید.

بافر LB و WB۱

حاوی: هیدروکلراید/ ایزوتیوسیانات گوانیدین.

هشدار! در صورت بلعیدن یا استنشاق ممکن است مضر باشد. باعث تحریک پوست و سوزش جدی چشم می‌شود و ممکن است باعث یک واکنش حساسیت پوستی شود. در صورت ادامه تحریک چشم، توصیه پزشکی را اعمال کنید. قبل از استفاده مجدد ، لباس‌های آلوده را درآورید و بشویید. از دستکش محافظ / لباس محافظ / محافظ چشم / محافظ صورت استفاده کنید.

جمع آوری، نگهداری و حمل و نقل نمونه:

- نمونه‌های عفونی در محیط و ظرف انتقال مخصوص به آزمایشگاه منتقل شده و کار با ملاحظات ایمنی زیستی انجام شود.
- نمونه‌ها می‌توانند بلافاصله استخراج شوند یا در دمای محیط، یخچال یا ۲۰- درجه نگهداری شوند.

آماده سازی محلول‌ها قبل از شروع کار

۲۷ میلی لیتر اتانول به WB۱ اضافه شود.
۶۵ میلی لیتر اتانول به WB۲ اضافه شود.

آدرس: انتهای یادگارامام، جنب مجمتع ورزشی میلاد، پادگان جی، ساختمان قدس، واحد تولید کیت‌های تشخیصی.
تلفن : ۰۲۱-۸۸۳۵۲۳۷۵ **فکس:** ۸۸۶۳۳۷۰۵ – ۰۲۱
وب سایت : www.Darmannegar.com **ایمیل :** Info@Darmannegar.com

روش کار:

- نمونه‌های سیتولوژی دهانه رحم (LBC) Liquid-based cytology، یا موارد مشابه، ظرف حاوی نمونه را به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کرده، سپس ۲۰۰ لاندا از محلول میکس شده را برداشته و داخل میکروتیوب تیوب ۱/۵ میلی لیتری می‌ریزیم.

- جهت نمونه‌های سواب واژینال، سواب را داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۵۰۰ لاندا بافر PBS یا سرم فیزیولوژی قرار داده، به شدت تکان داده و پس از آبگیری سواب در دیواره داخلی تیوب، ۲۰۰ لاندا از محلول را برداشته و داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری می‌ریزیم.

- در مورد بلوک‌های پارافینه، ۱ برش ۵ میکرونی از بافت تهیه کرده و داخل تیوب ۱/۵ قرار می‌دهیم. ۵۰۰ لاندا محلول زایلین را به آن اضافه کرده، ۵ ثانیه ورتکس و به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق قرار می دهیم. به مدت ۳۰ ثانیه در حداکثر دور سانتریفیوژ کرده و محلول رویی را دور ریخته و دوباره این مرحله را تکرار می-کنیم. در مرحله بعد ۵۰۰ لاندا اتانل مطلق را به تیوب محتوی بافت اضافه کرده، ۵ ثانیه ورتکس و به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق قرار می‌دهیم. به مدت ۳۰ ثانیه در حداکثر دور سانتریفیوژ کرده و محلول رویی را دور ریخته و دوباره این مرحله را تکرار می‌کنیم. ۲۰۰ بافر PBS یا آب مقطر به تیوب محتوی بافت اضافه می‌کنیم.

۱- ۲۰۰ میکرولیتر محلول لایز را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتری محتوی ۲۰۰ میکرولیتر نمونه بیمار (آماده شده طبق دستورالعمل بالا) اضافه نمایید. در ادامه ۲۰ میکرولیتر پروتیناز k اضافه کرده و به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۲- ۲۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه قرار داده، سپس به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۳- ۲۵۰ میکرولیتر بافر BB به مخلوط لایز و نمونه اضافه کرده، به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۴- ۶۷۰ میکرولیتر محتوی تیوب را به داخل ستون قرار گرفته در تیوب جمع آوری انتقال داده و به مدت ۱دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۵- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۰۰ میکرولیتر بافر WB۱ را اضافه نموده و به مدت ۱دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۶- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۵۰ میکرولیتر بافر WB۲ را اضافه نموده و به مدت ۱دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۷- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

۸- ستون را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتر قرار داده و به آن ۱۰۰ میکرولیتر بافر EB اضافه نموده و یک دقیقه در دمای اتاق قرار دهید. در ادامه به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

۹- محلول حاصله برای تمامی واکنش‌های مولکولی قابل استفاده بوده و در صورت انجام آزمایش در آینده، در دمای ۷۰- نگهداری گردد.

کنترل کیفیت

مطابق با سیستم مدیریت کیفیت جامع هلدینگ سدار، هر سری کیت استخراج Cedbio بر اساس استانداردهای تعیین شده، جهت اطمینان از تولید محصول با کیفیت، مورد بررسی دقیق آزمایشگاهی با نمونه های کنترل و مقایسه با کیت‌های تراز اول جهانی قرار می‌گیرد.

تصویر علائم هشدار و نگهداری:

هشدار / خطر بالقوه

احتیاط / حساسیت زا و التهاب آور

۱. De Souza, M. M. A., Hartel, G., Whiteman, D. C., & Antonsson, A. (2018). Detection of oral HPV infection – Comparison of two different specimen collection methods and two HPV detection methods. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 90(4), 267–271. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2017.

۲. Golfetto, L., Alves, E. V., Martins, T. R., Sincero, T. C. M., Castro, J. B. S., Dannebrock, C., … Bazzo, M. L. (2018). *PCR-RFLP assay as an option for primary HPV test. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 51(5).* doi:10.1590/1414-431x20177098

۳. Akhondnezhad, M., Haghshenas, M. R., Ghasemi, M., & Mousavi, T. (2018). *The prevalence and genotyping of human papillomavirus in patients with oral tumors in health centers and clinics of Mazandaran in Iran. VirusDisease, 29(3), 297–302.* doi:10.1007/s13337-018-0472-2

٤. Moura, A., Hodon, M. A., Soares Filho, P. M., Issa, M. de A., Oliveira, A. P. F. de, & Fonseca Júnior, A. A. (2016). *Comparison of nine DNA extraction methods for the diagnosis of bovine tuberculosis by real time PCR. Ciência Rural, 46(7), 1223–1228.* doi:10.1590/0103-8478cr20151489.

آدرس: انتهای یادگارامام، جنب مجمتع ورزشی میلاد، پادگان جی، ساختمان قدس، واحد تولید کیت‌های تشخیصی.

تلفن : ۰۲۱-۸۸۳۵۲۳۷۵ **فکس:** ۸۸۶۳۳۷۰۵ – ۰۲۱

وب سایت : www.Darmannegar.com **ایمیل :** Info@Darmannegar.com