



***AmitisGen SARS-CoV-2
Viral RNA Extraction Kit***



کیت AmitisGen SARS-CoV-2 Viral RNA Extraction Kit بطور اختصاصی برای استخراج RNA ویروسی از نمونه های تنفسی شامل: نمونه های به دست آمده از بخش فوقانی دستگاه تنفس شامل سواب بینی - حلقی و نیز نمونه بخش تحتانی دستگاه تنفسی مانند خلط ، نمونه آسپیره بینی- حلقی یا مایع لاواژ برونکو آلوئولار طراحی و ساخته شده است. اساس این محصول تخریب سلول ها در حضور نمک های کاتیونی و بدام اندازی RNA ویروسی در غشاء سیلیکایی ستون استخراج می باشد، که در نهایت RNA بواسطه محلول غیر نمکی از ستون جدا شده و آماده استفاده در مراحل پایین دستی می شود. غلظت و خلوص RNA استخراج شده در این روش بسیار بالاست و مناسب برای استفاده در تشخیص بالینی می باشد.

اجزای کیت:

نام اجزا	تعداد/حجم	دمای نگهداری
Lysis buffer	1/20ml	دمای محیط
Removal buffer	1/50ml	دمای محیط
Isopropanol	1/20ml	دمای محیط
Wash buffer	1/100ml	دمای محیط
Elution buffer	1/10ml	دمای محیط
Spin column	100psc	دمای محیط
Collection tube	200psc	دمای محیط

دمای نگهداری برای کل اجزای کیت، دمای محیط (۱۵-۲۵ درجه سانتی گراد) می باشد.

نگهداری بلند مدت می تواند باعث ایجاد رسوب در *Lysis buffer* شود، این رسوب می تواند بر روی کارایی کیت اثر گذاشته و کارایی کیت را کاهش دهد. بنابراین هنگام استفاده تمامی محلول ها چک شود، در صورت وجود رسوب در هر محول ، بطری مورد نظر در دمای ۵۵ درجه انکوبه شود تا رسوب به خوبی در محلول حل شود.

تمامی اجزای کیت آماده استفاده می‌باشند و نیازی به آماده سازی ندارند.

به هیچ وجه مواد اضافی شامل الکل و سایر محلول ها را به هیچ کدام از اجزای کیت اضافه نکنند.

هشدارهای ایمنی:

- پرسنل بخش باید آموزش دیده باشند و به تمام پروتکل‌های ایمنی زیستی مرتبط با بخشهای مولکولی آشنایی داشته باشند.
- تمامی مراحل آزمون باید در محیط *Biosafety Level-2* و یا سطوح ایمنی بالاتر انجام شود.
- تمامی پرسنل بخش باید پوشش مناسب بخش عفونی شامل روپوش، گان، دستکش لاتکس بدون پودر، ماسک *N95* عینک محافظ را داشته باشند، تمامی موارد مصرفی باید *Molecular Grade* و *DNase-RNase Free* باشند.
- تمامی نمونه‌های مورد آزمون باید به عنوان نمونه‌های عفونی در نظر گرفته شوند، بنابراین در تمامی مراحل پردازش و آزمون باید نکات ایمنی زیستی با بالاترین درجه اطمینان رعایت شوند.
- جهت ضد عفونی کردن سطوح و محیط از محلول‌های ضد عفونی کننده مورد تأیید استفاده شود.
- غیر فعال سازی و امحاء نمونه‌ها باید بر اساس پروتکل‌های دفع و امحاء نمونه‌های زیستی انجام شود.
- هنگام استفاده از کیت تاریخ انقضاء کیت را بررسی کرده و از محصول منقضی شده استفاده نکنید.
- از مخلوط کردن اجزای *Lot* های مختلف کیت با هم خود داری نمائید.
- *Lysis Buffer* حاوی مواد آسیب رسان است ، بنابراین هنگام استفاده از این مواد حتما از دستکش استفاده نمائید.

نمونه مورد استفاده:

نمونه های به دست آمده از بخش فوقانی دستگاه تنفس شامل سواب بینی - حلقی و نیز نمونه بخش تحتانی دستگاه تنفسی مانند خلط ، نمونه آسپیره بینی- حلقی یا مایع لاواژ برونکو آلوئولار نمونه مناسب جهت شناسایی ویروس *SARS-CoV-2* هستند.

تجهیزات مورد نیاز:

تجهیزات مورد نیاز شامل:

۱. اتاق استخراج با فشار هوای منفی و دارای لامپ UV با پوشش مناسب
۲. هود لامینار کلاس BII
۳. سانتریفیوژ
۴. ورتکس
۵. بلوک سرد
۶. سمپلر های متغییر
۷. میکروتیوب های RNase-DNase Free
۸. سر سمپلر های فیلتر دار RNase-DNase Free
۹. ظروف زباله Safety Box
۱۰. اسپری هیپوکلریت سدیم ۱ درصد
۱۱. اسپری الکل ۷۰ درصد

مراحل استخراج:

۱. ۲۰۰ ماکرولیترا از نمونه را داخل میکروتیوب ۱٫۵ انتقال داده.
۲. ۲۰۰ ماکرولیترا محلول *Lysis buffer* به آن اضافه کرده (در صورت وجود رسوب در *Lysis buffer* محلول را در دمای ۵۵ درجه قرار داده تا رسوب دوباره حل شود).
۳. درب میکروتیوب را بسته و ۲۰ ثانیه ورتکس و اسپین نمائید.
۴. ۲۰۰ ماکرولیترا از *Isopropanol* به محلول فوق اضافه کرده، ۲۰ ثانیه ورتکس و اسپین کرده.
۵. درب میکروتیوب را بسته به مدت ۱ دقیقه و ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ کنید.
۶. محلول روی را با سمپلر سایز ۱۰۰۰ فیلتردار به آرامی کشیده و روی *Spin column* لود کنید.
۷. *Spin column* به همراه *collection tube* را به مدت ۱ دقیقه و ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ کنید. در این مرحله *collection tube* را معدوم نمائید و *spin column* را در یک *collection tube* جدید قرار دهید.

۸. ۵۰۰ ماکرولیتر از *Removal buffer* به ستون استخراج اضافه کرده و به مدت ۱ دقیقه و *rpm* ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید. محلول جمع شده در *collection tube* را دور ریخته و سپس *spin* را داخل *collection* قرار دهید.

۹. ۵۰۰ میکرولیتر از *wash buffer* به *spin column* اضافه کرده و به مدت ۱ دقیقه و *rpm* ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کنید. محلول جمع شده در *collection tube* را دور ریخته و سپس *spin* را داخل *collection* قرار دهید.

۱۰. مرحله ۹ را دوباره تکرار نمایید.

۱۱. *Spin column* به همراه *collection tube* را به مدت ۲ دقیقه و *rpm* ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

۱۲. *Spin column* را داخل یک میکروتیوب ۱,۵ *DNase-RNase Free* قرار داده، سپس ۴۰-۵۰ میکرولیتر *Elution buffer* به *spin column* اضافه کرده، به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید سپس به مدت ۲ دقیقه و *rpm* ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

۱۳. *RNA* استخراج شده آماده مراحل پایین دستی است.

* *RNA* استخراج شده باید فوراً به فریزر -۲۰ منتقل گردد، در صورت نگهداری بلند مدت به فریزر -۴۰ منتقل گردد.

* در نظر داشته باشید نگهداری طولانی مدت *RNA* باعث کاهش کیفیت و غلظت آن میگردد.

مشکل	علل	رفع مشکل
بازده کم	نگهداری کیت در شرایط دمایی نامناسب	کیت باید در بازه دمایی ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شود
	وجود رسوب در بافرهای محصول	در صورت مشاهده هر گونه رسوب در بطری های محصول مورد مذکور را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه انکوبه کرده با رسوب به خوبی حل گردد
	نامناسب بودن نمونه استفاده شده	فرآیند نمونه گیری بررسی و تکرار شود. نمونه گیری باید توسط کادر آموزش دیده انجام شود. نمونه باید تا زمان استخراج در دمای یخچال نگهداری شود.
کاهش غلظت <i>RNA</i> در <i>RNA</i> <i>Elution</i>	<i>RNA</i> تخریب	<i>RNA</i> می تواند در اثر نگهداری نامناسب نمونه تخریب شود، همچنین استفاده از موارد مصرفی غیر استاندارد می تواند ریسک تخریب <i>RNA</i> را افزایش دهد



Used by



Lot number



Manufacturer



Date of manufacture



Reference number



In Vitro Diagnostic



Temperature limitation



Consult instructions for use



Do not re-use



Do not use if package is damage



Contains sufficient for <N> tests

Reference:

1. Huang Y, Chen S, Yang Z, Guan W, Liu D, Lin Z, Zhang Y, Xu Z, Liu X, Li Y. SARS-CoV-2 viral load in clinical samples from critically ill patients. American journal of respiratory and critical care medicine. 2020 Jun 1;201(11):1435-8.
2. Moore NM, Li H, Schejbal D, Lindsley J, Hayden MK. Comparison of two commercial molecular tests and a laboratory-developed modification of the CDC 2019-nCoV reverse transcriptase PCR assay for the detection of SARS-CoV-2. Journal of Clinical Microbiology. 2020 Jul 23;58(8):e00938-20.