

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.

• نمونه ها 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 فیلتر دار استفاده شود.

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

⚠ بافر LB و WB1

⚠ حاوی: هیدروکلراید/ ایزوتیوسیانات گوانیدین.

⚠ هشدار! در صورت بلعیدن یا استنشاق ممکن است مضر باشد. باعث تحریک پوست و سوزش جدی چشم می شود 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 درآورد و بشویید. از دستکش محافظ / لباس محافظ / محافظ چشم / محافظ صورت استفاده کنید.

جمع آوری، نگهداری و حمل و نقل نمونه:

- نمونه های عفونی در محیط و ظرف انتقال مخصوص به آزمایشگاه منتقل شده و کار با ملاحظات ایمنی زیستی انجام شود.
- نمونه ها می توانند بلافاصله استخراج شوند یا در دمای محیط، یخچال یا ۲۰- درجه نگهداری شوند.

آماده سازی محلول ها قبل از شروع کار

۲۷ میلی لیتر اتانول به WB1 اضافه شود.

۶۵ میلی لیتر اتانول به WB2 اضافه شود.

مورد استفاده:

این کیت جهت استخراج DNA ویروس HPV با خلوص بالا از نمونه های سیتولوژی، بلوک های بافتی، سواب واژینال و مایعات انسانی و حیوانی می باشد.

اساس و ویژگی ها:

این کیت استخراج بر پایه ستون سیلیکا می باشد. بافر لایز این کیت محتوی دترجنت، گواندین ایزوتیوسیانات و بافر می باشد. محلول های مرحله شستشوی این کیت حاوی گوانیدین هیدروکلراید و بافر می باشد. DNA استخراج شده می تواند برای اهداف مختلف از جمله هیبریداسیون معکوس و انواع روش های مبتنی بر PCR استفاده شود.

محتوای کیت:

محتویات	مقدار	شرایط نگهداری
Lysis Buffer (LB)	22 ml	دمای اتاق ۱۵-۲۵°C
Proteinase K (pk)	1 ml	
Binding Buffer (BB)	30 ml	
Wash Buffer1 (WB1)	40 ml	
Wash Buffer2 (WB2)	15 ml	
Elution Buffer (EB)	20 ml	
Column	100	
Collection tube	200	

شرایط نگهداری:

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

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

روش کار:

۶- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۵۰ میکرولیتر بافر WB2 را اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ g 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 واکنش های مولکولی قابل استفاده بوده و در صورت انجام آزمایش در آینده، در دمای ۷۰- نگهداری گردد.

- نمونه های 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 می ریزیم.

- جهت نمونه های 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 آگیری سواب در دیواره داخلی تیوب، ۲۰۰ لاندا از محلول را برداشته و داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری می ریزیم.

- در مورد بلوک های پارافینه، ۱ برش ۵ میکرونی از بافت تهیه کرده و داخل تیوب ۱/۵ قرار می دهیم. 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 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. ۲۰۰ بافر PBS یا آب مقطر به تیوب محتوی بافت اضافه می کنیم.

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 ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

۵- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۰۰ میکرولیتر بافر WB1 را اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

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 کیت های تراز اول جهانی قرار می گیرد.

تصویر علائم هشدار و نگهداری:



هشدار / خطر بالقوه



احتیاط / حساسیت زا و التهاب آور