

*tBioCare*TM Viral RNA/DNA Swab Kit - IFU

برای استخراج RNA و DNA ویروسی از سواب خشک



Version 2

IVD

For in vitro diagnostic use

REF

611100-50



Zist Tashkhis Farda (tBioDx) Co., No. 2, 4th Dd. End,
Seoul St., Tehran, Iran

سرفصل مطالب

3	کاربرد کیت
3	محتوای کیت
3	شرایط نگهداری - حمل، نگهداری و پایداری
3	مواد و ابزارهایی که مصرف کننده باید تهیه کند
3	آماده سازی مواد
4	اطلاعات ایمنی
5	توصیه های عمومی
6	کار با نمونه های بیولوژیک
6	کنترل کیفی
6	مقدمه
6	اصول و روش کار
8	پروتکل ۱ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک
9	پروتکل ۲ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک - استفاده از محلول X به عنوان UTM/VTM
10	عملکرد و کارایی
9	اطلاعات سفارش
10	علائم

کاربرد کیت:

کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استفاده در آزمایش های بیولوژی مولکولی ساخته شده است. این کیت برای تشخیص، پیشگیری و یا درمان بیماری نیست.

محتوای کیت:

<i>tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit</i>	Catalog no.: 611100-50
نام محصول موجود در کیت	تعداد یا مقدار
Enzyme Mix A	27 mg
Enzyme Mix B	27 mg
Reagent X	25 mL
Reagent Z1	2 mL

شرایط نگهداری:

کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* در دمای اتاق حمل می گردد. پس از دریافت کیت می توانید محلول X را در دمای بین ۲ تا ۲۵ درجه نگهداری کنید. سایر مواد باید در ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شوند.

مواد و ابزارهایی که مصرف کننده باید تهیه کند:

برای استخراج RNA و DNA ویروسی با استفاده از *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* به مواد و ابزار زیر نیاز است:

- میکروتیوبهای ۱/۵ یا ۲ میلی لیتری
- ورتکس
- ترموبلاک یا ترمومیکسر ۹۰ درجه سانتیگراد
- پیپتورهای مناسب و نوک سمپلرهای فیلتر دار

آماده سازی مواد:

قبل از اولین استفاده از کیت، باید مراحل زیر را انجام دهید:

۱- مقدار ۱ میلی لیتر محلول Z1 به پودر مخلوط آنزیمی A اضافه کنید و با ۱۰ بار پیپتینگ آن را حل و هموزن نمایید.

۲- مقدار ۱ میلی لیتر محلول Z1 به پودر مخلوط آنزیمی B اضافه کنید و با ۱۰ بار پیپتینگ آن را حل و هموزن نمایید.

محلولهای فوق را در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد ذخیره کنید.

اطلاعات ایمنی:

هنگام کار با مواد شیمیایی حتماً روپوش مناسب، دستکش نیتریل یا وینیل و عینک محافظ چشم استفاده کنید. نمونه های بیولوژیک بالقوه می توانند عفونت را باشند.

مواد موجود در محلول X عاری از هر ماده ی خطرناکی است. اما مخلوط آنزیمی موجود در مخلوط آنزیمی B و مخلوط آنزیمی A طبق قوانین CLP اتحادیه اروپا باید مواد خطرناک محسوب شوند. برگه ی اطلاعات ایمنی (MSDS) در صورت درخواست، برایتان ارسال می شود.

لطفاً به موارد احتیاط و خطر زیر توجه فرمایید:

H334 - ممکن است در صورت استنشاق آن به صورت پودر موجب علائم آلرژیک و یا آسم یا مشکلات تنفسی شود.

P261 - از استنشاق گرد و غبار بپرهیزید.

P284 - از ماسک یا محافظ تنفسی استفاده کنید.

خطر



H315 - موجب تحریک شدید پوست می شود.

H319 - موجب تحریک شدید چشم می شود.

H335 - ممکن است موجب تحریک تنفسی شود.

H334 - ممکن است در صورت استنشاق آن به صورت پودر موجب علائم آلرژیک و یا آسم یا مشکلات تنفسی شود.

P264 - در صورت تماس تصادفی با هر نقطه از بدن، آن را بشویید.

P280 - دستکش، محافظ چشم و صورت بپوشید.

P261 - از استنشاق گرد و غبار بپرهیزید.

P284 - از ماسک یا محافظ تنفسی استفاده کنید.

خطر



اگر در هنگام کار با این کیت، محلول های حاوی مواد بیولوژیک بر روی میز کار ریخت، آن را ابتدا با محلول های حاوی دترجنت و پس از آن با آب تمیز کنید، سپس از محلول ۱٪ (v/v) هیپوکلریت سدیم برای ضد عفونی کردن سطح فوق استفاده کنید.

توصیه های عمومی

استفاده از تکنیکهای مولکولی، از جمله PCR در آزمایشگاه نیازمند به کار گیری اصولی است که رعایت آنها الزامی است، از قبیل:

۱- همیشه از دستکش های (وینیل یا نیتریل) یکبار مصرف و فاقد پودر استفاده کنید.

۲- نمونه ی مورد آزمایش، کیت ها و محلول های آزمایش را از آلودگی میکروبی و نوکلئازها (DNase و RNase) محافظت کنید. نوکلئازها (DNase و RNase) می توانند موجب تخریب و تجزیه الگوی واکنش (DNA یا RNA) شوند.

۳- از آلودگی نمونه ی مورد آزمایش به DNAی نمونه های دیگر (cross contamination) یا محصول PCR (carryover) محافظت کنید. برای این منظور:

- در حین کار با نمونه ی بیولوژیک، از تماس دستکش به دهانه لوله ها هنگامی که درب لوله ها باز است، یا هنگامی که درب لوله ها را باز می کنید، بپرهیزید. در صورت تماس، بلافاصله دستکش خود را تعویض کنید.
 - در صورت کار بر روی چند نمونه ی بیولوژیک به طور همزمان، فاصله فیزیکی مناسب بین لوله ها بگذارید و ترجیحا درب لوله ها را به نوبت باز کرده و پس از انجام پیپتینگ درب آن را بسته و پیپتینگ نمونه ی بعدی را آغاز کنید.
 - در صورتیکه باید درب لوله های نمونه در حین آزمایش باز باشند، در هنگام پیپتینگ مراقب باشید تا «ذرات معلق» (aerosol) ایجاد نکنید.
 - در صورت نیاز به سانتریفیوژ، مطمئن شوید که درب لوله های آزمایش کاملا بسته هستند.
 - در صورتیکه در بخشی از آزمایش، محلول داخل لوله ها باید با سر-و-ته کردن لوله ها یا ورتکس مخلوط شوند، هیچگاه درب آنها را پیش از یک سانتریفیوژ کوتاه باز نکنید.
 - در صورتیکه در بخشی از آزمایش، محلول داخل لوله ها باید در دمای بالاتر از اتاق انکوبه شوند (مثلا ۶۰ درجه یا بیشتر در مراحل استخراج اسیدهای نوکلئیک)، هیچگاه درب آنها را پیش از یک سانتریفیوژ کوتاه باز نکنید.
 - در هنگام کار با محلول های غلیظ (viscous)، مانند بافرهای لیز کننده و یا محلول های حاوی دترجنت، از پیپتینگ معکوس (reverse pipetting) برای انتقال محلول استفاده کنید تا از تشکیل حباب و ذرات معلق جلوگیری شود.
 - هنگام کار با محلول هایی که غلظت بالایی ندارند، مراقب باشید تا در هنگام پیپتینگ (چه مکش و چه تخلیه ی نوک سمپلر)، حباب هوا و یا ذرات معلق (aerosol) ایجاد نکنید.
 - پس از هر پیپتینگ محلول حاوی نمونه ی بیولوژیک یا اسید نوکلئیک، نوک سمپلر را به آرامی در ظرف مخصوص دور بیاندازید.
 - هیچگاه لوله های PCR را پس از اتمام آزمایش به اتاق استخراج و یا آماده سازی محلول ها منتقل نکنید.
- ۴- همیشه از نوک سمپلر های فیلتر دار و یکبار مصرف عاری از نوکلئازها (DNase/RNase-Free) استفاده کنید.

تمام نمونه های بیولوژیک باید به طور بالقوه مواد عفونی تلقی شوند.

احتیاط



کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استخراج از RNA و DNA ویروس از انواع سوابهای خشک (پنبه ای، پلی استر و ... FLOQSwab) طراحی و ساخته شده است. در هنگام کار با نمونه های بیولوژیک، که می توانند بالقوه عفونی باشند، کلیه مواردی که در «اطلاعات ایمنی» ذکر شده است را رعایت کنید.

کنترل کیفی:

مطابق با سیستم مدیریت کیفیت (ISO) شرکت زیست تشخیص فردا، هر سری تولید (Lot) از کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* با آزمایش های خاص و از پیش تعریف شده مورد ارزیابی قرار می گیرند تا از کیفیت آنها اطمینان حاصل شود.

مقدمه:

کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استخراج DNA یا RNA ژنومی ویروس ها طراحی و ساخته شده است.

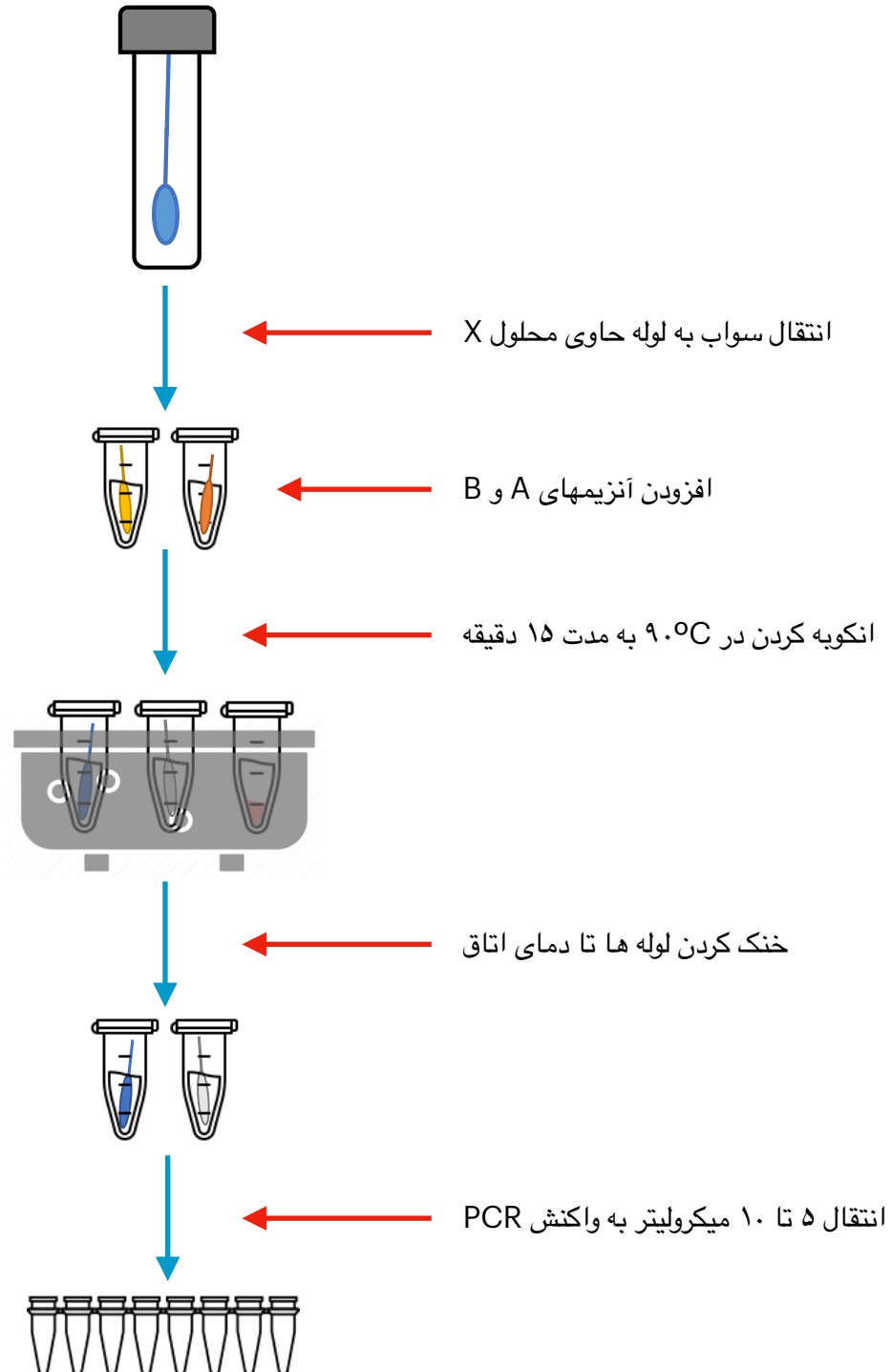
کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* با انواع متنوعی از سوابهای پنبه ای، پلی استر، FLOQSwab و غیره سازگاری دارد. این کیت علاوه بر تثبیت ذرات ویروس (virus particles) پیش از استخراج، در حین استخراج به طور موثری این ذرات را لیز و بلافاصله، نوکلئازها را نیز غیر فعال می کند. با اعمال حرارت در جریان استخراج، ذرات ویروسی که درون سلولهای یوکاریوتیک قرار دارند آزاد می شوند و فرمولاسیون ویژه ی آنزیمی در این کیت علاوه بر تاثیر در لیز موثر ذرات ویروس، مهارکننده ها را نیز غیرفعال و از ژنوم ویروس محافظت می کند.

اصول و روش کار:

کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استخراج RNA و DNA از انواع متنوعی از سوابهای خشک (پنبه ای، پلی استر، FLOQSwab و ...) طراحی و ساخته شده است. اجزاء مختلف این کیت واکنش های خاصی را در جریان استخراج RNA یا DNA ویروسی بر عهده دارند.

در آغاز استخراج، با اضافه کردن مخلوط آنزیمی A و مخلوط آنزیمی B به محلول X، یک بافر فعال شده برای لیز ذرات ویروس و تخریب مهار کننده ها تشکیل می شود. این محلول فعال شده در حین لیز ذرات ویروسی، موجب پایداری RNA یا DNA موجود در محلول نیز می شود.

استخراج DNA و RNA ویروسی از سواب خشک



پروتکل ۱ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک

قبل از شروع:

- ترموبلاک (ترمومیکسر) را بر روی ۹۰ درجه سانتیگراد تنظیم کنید.

نکته مهم: کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استخراج DNA و RNA از سواب خشک طراحی شده است. به هیچ عنوان از نمونه‌هایی که در UTM/VTM و یا PBS نگهداری شده‌اند در این کیت استفاده نکنید. در صورت نیاز می‌توانید از محلول X به عنوان UTM/VTM طبق پروتکل ۲ (صفحه ۹) استفاده کنید.

نکته مهم: سواب خشک حاوی پارتیکل‌های ویروس را می‌توانید تا ۷ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری نمایید.

پروتکل:

۱- مقدار ۴۶۰ میکرو لیتر محلول X به یک لوله تمیز اضافه کنید.

۲- به ازای هر نمونه مقادیر ۲۰ میکرو لیتر آنزیم A و ۲۰ میکرو لیتر آنزیم B را با هم مخلوط کنید و به میزان ۴۰ میکرو لیتر از مخلوط آماده شده به لوله های حاوی محلول X اضافه کنید.

نکته: این آماده سازی حتما باید در زمان آزمایش و به صورت تازه انجام شود. مخلوط آنزیمهای A و B قابل نگهداری نیستند. برای سهولت کار می‌توانید مخلوط مراحل ۱ و ۲ را به تعداد نمونه‌های مورد آزمایش در یک لوله فالكون تهیه و سپس به لوله های ۱/۵ یا ۲ میلی میلیتری تمیز تقسیم کنید.

۳- سواب را به مدت ۵ ثانیه در مخلوط محلول X و آنزیم های A و B بچرخانید. نوک سواب را جدا کنید تا در لوله واکنش آزاد شود. لوله واکنش را به طور ایمن ببندید تا از باز شدن در مرحله لیز جلوگیری شود.

۴- لوله ها را به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس کنید.

۵- مخلوط لیز را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.

۶- مخلوط بالا را خنک کنید، به عنوان مثال روی یخ قرار دهید. سپس به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۸۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

۷- با انتقال مقدار ۵ تا ۱۰ میکرو لیتر از محلول لیز شده به لوله PCR، آزمایش خود را انجام دهید.

۸- می‌توانید برای ذخیره ی باقیمانده ی استخراج، محلول استخراج شده را به یک لوله ی ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره نمایید.

نکته: در صورتیکه از کیت *tBioDx™ SARS-CoV-2 5-plex Screening Kit* استفاده میکنید، مقدار ۷ میکرو لیتر از محلول استخراج شده را به لوله ی PCR منتقل کنید.

نکته: در صورتیکه فقط از سوابهای نازوفارنکس که دارای نوک باریک و کوتاه می‌باشند استفاده می‌کنید، می‌توانید حجم محلول X را به ۳۰۰ میکرو لیتر کاهش دهید. در این حالت، میزان استفاده از آنزیم های A و B نیز به ازای هر نمونه ۱۲ میکرو لیتر خواهد بود (۱۲ میکرو لیتر آنزیم A و ۱۲ میکرو لیتر آنزیم B).

پروتکل ۲ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک استفاده از محلول X به عنوان UTM/VTM

قبل از شروع:

- ترموبلاک (ترمومیکسر) را بر روی ۹۰ درجه سانتیگراد تنظیم کنید.

نکته مهم: کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* برای استخراج DNA و RNA از سواب خشک طراحی شده است. به هیچ عنوان از نمونه‌هایی که در UTM/VTM و یا PBS نگهداری شده‌اند در این کیت استفاده نکنید.

نکته مهم: سواب خشک حاوی پارتیکل‌های ویروس را می‌توانید تا ۷ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری نمایید.

پروتکل:

۱- سواب را به مدت ۵ ثانیه در ۴۶۰ میکرو لیتر محلول X بچرخانید.

۲- نوک سواب را جدا کنید تا در لوله واکنش آزاد شود. لوله واکنش را به طور ایمن ببندید تا از باز شدن در مرحله لیز جلوگیری شود.

۳- به ازای هر نمونه مقادیر ۲۰ میکرو لیتر آنزیم A و ۲۰ میکرو لیتر آنزیم B را با هم مخلوط کنید و به میزان ۴۰ میکرو لیتر از مخلوط آماده شده به لوله های حاوی نمونه سواب اضافه کنید.

نکته: این آماده سازی حتما باید در زمان آزمایش و به صورت تازه انجام شود. مخلوط آنزیم های A و B قابل نگهداری نیستند.

۴- لوله ها را به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس کنید.

۵- مخلوط لیز را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.

۶- مخلوط بالا را خنک کنید، به عنوان مثال روی یخ قرار دهید. سپس به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۸۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

۷- با انتقال مقدار ۵ تا ۱۰ میکرو لیتر از محلول لیز شده به لوله PCR، آزمایش خود را انجام دهید.

۸- می‌توانید برای ذخیره ی باقیمانده ی استخراج، محلول استخراج شده را به یک لوله ی ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره نمایید.

نکته: در صورتیکه از کیت *tBioDx™ SARS-CoV-2 5-plex Screening Kit* استفاده میکنید، مقدار ۷ میکرو لیتر از محلول استخراج شده را به لوله ی PCR منتقل کنید.

نکته: در صورتیکه فقط از سوابهای نازوفارنکس که دارای نوک باریک و کوتاه می باشند استفاده می کنید، می‌توانید حجم محلول X را به ۳۰۰ میکرو لیتر کاهش دهید. در این حالت، میزان استفاده از آنزیم های A و B نیز به ازای هر نمونه ۱۲ میکرو لیتر خواهد بود (۱۲ میکرو لیتر آنزیم A و ۱۲ میکرو لیتر آنزیم B).

اطلاعات عملکرد

برای ارزیابی عملکرد کلینیکی کیت *tBioCare™* Viral RNA/DNA Swab Kit از تعداد ۶۵۹ بیمار مشکوک به کرونا به طور همزمان هم نمونه سواب خشک و هم نمونه سواب در UTM تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام استخراج RNA از نمونه های ذخیره شده در UTM، از کیت های QIAamp MinElute Virus Spin Kit شرکت QIAGEN و همچنین کیت شرکت MACHERY-NAGEL استفاده شد.

از تعداد ۶۵۹ نمونه بیماران، تعداد ۱۴۹ نمونه برای تست کرونا مثبت و تعداد ۵۱۰ نمونه منفی شدند. حساسیت و ویژگی کلینیکی بدست آمده بسیار خوب و ۱۰۰٪ بود.

	Positive Results	Negative Results	Clinical Sensitivity	Clinical Specificity
<i>tBioCare™</i> Viral RNA/DNA Swab Kit	149	510	100%	100%
QIAamp MinElute Virus Spin Kit	149	510		
NucleoSpin Viral RNA Kit				

ارزیابی میانگین سیکل آستانه تشخیص (threshold cycle - ct value) نیز نشان میدهد که عملکرد کیت استخراج *tBioCare™* Viral RNA/DNA Swab Kit در مقایسه با کیت های شرکت QIAGEN و MACHERY-NAGEL نیز برای ژنهای N، RdRp و RNase P بسیار خوب بود.

	Average ct Value for N Gene	Average ct Value for RdRp Gene	Average ct Value for RNase P Gene
<i>tBioCare™</i> Viral RNA/DNA Swab Kit	22.03	21.45	21.45
QIAamp MinElute Virus Spin Kit	21.39	20.34	20.77
NucleoSpin Viral RNA Kit			
Δ CT	-0.64	-1.11	-0.68

اطلاعات سفارش

جهت سفارش کیت *tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit* به آدرس www.tbiodx.com و یا با شماره تلفن ۰۲۱-۸۸۲۱۸۱۲۰ و ۰۲۱-۸۸۰۶۰۳۳۶ از روزهای شنبه تا چهارشنبه بین ساعت ۸ صبح تا ۴:۳۰ دقیقه بعد از ظهر تماس بگیرید.

شماره کاتالوگ	محصول
611100-50	<i>tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit</i>

Trademarks: tBioDx™, ExtendScreen™, tBioCare™, tBioMag™, tBioSpin™ (Zist Tashkhis Farda - tBioDx Co.). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

علائم

لیست علائمی که ممکن است بر روی لیبل و یا جعبه محصول باشد:



Tests Per Kit



Research Use Only



In Vitro Diagnostic Use Only



Catalogue Number



Lot Number (Batch Code)



Global Trade Item Number



Temperature Limitations (Storage Temperature)



Use By (Expiration Date)



Attention



Consult Instructions for Use



Date of Manufacture



Manufacturer

