

راهنمای کیت COVID-19 RQ

کیت COVID-19 RQ به منظور تشخیص RNA ویروس کرونای عامل COVID-19 یا SARS-CoV-2 به روش Real-Time PCR و جهت کار با دستگاه‌های Rotor-Gene، StepOne و MIC طراحی شده است. این کیت همچنین حاوی کنترل داخلی می‌باشد که از گزارش منفی کاذب حاصل از ناکارآمدی استخراج RNA یا مهار PCR پیشگیری می‌کند. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی می‌باشد.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می‌باشد:

برچسب	محتوا	حجم
CoV2 Mix	میکس RT-PCR*	۳۶۰ میکرولیتر
Resp A Ctrl	شاهد مثبت	۱۵۰ میکرولیتر
Internal Ctrl	کنترل داخلی	۲۵۰ میکرولیتر
Water	آب مخصوص PCR	۲۰۰ میکرولیتر

تمامی مواد کیت باید در دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه زیر صفر نگهداری شوند.

کنترل داخلی: برای ارزیابی احتمال استخراج نامناسب یا مهار واکنش و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، این کیت حاوی کنترل داخلی می‌باشد. برای استفاده در مرحله استخراج، کنترل داخلی را پس از افزودن بافر lysis به نمونه، اضافه کنید. میزان مورد نیاز از کنترل داخلی ده درصد حجم حلال نهایی (elution buffer) می‌باشد. در صورتی که کنترل داخلی را به CoV2 Mix اضافه می‌نمایید، تنها می‌توانید مهار واکنش PCR را بررسی کنید. به این منظور به ازای هر واکنش PCR، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به CoV2 Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR کنترل داخلی منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۸ تا ۳۴ می‌شود.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه‌های مورد آزمایش، یک لوله برای کنترل مثبت و یک لوله برای کنترل منفی (آب) نیز در نظر بگیرید. به هر لوله ۱۵ میکرولیتر از **CoV2 Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از RNA استخراج شده، **کنترل مثبت** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **CoV2 Mix** اضافه نمایید، مطابق توضیحات قسمت قبل کنترل داخلی را به میکس افزوده و ۱۵ میکرولیتر از مخلوط حاصل را به هر لوله منتقل کنید. در پایان ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده، **کنترل مثبت** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

درپوش لوله‌ها را ببندید. سپس آن‌ها را مطابق شماره‌ها داخل دستگاه قرار دهید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene یا StepOne از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می‌توانید دستگاه را مطابق جدول زیر تنظیم نمایید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	50°C x 10 min	1
2	95°C x 3 min	1
3	95°C x 15 sec	45
	60°C x 60 sec	

اندازه‌گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای کانال‌های سبز و زرد تنظیم شود. CoV2 Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می‌باشد.

آنالیز نتایج: توجه نمایید که افزایش تابش **FAM/Green** مربوط به **SARS-CoV-2** و افزایش تابش **VIC/Yellow** حاصل از **کنترل داخلی** می‌باشد.

توجه داشته باشید نمونه تنها زمانی مثبت در نظر گرفته می شود که دارای منحنی سیگموییدی و فاز لگاریتمی باشد و تنها در این حالت CT معتبر بوده و قابل استناد و تفسیر می باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، نمونه منفی محسوب می شود و (CT آن) در صورت وجود فاقد ارزش می باشد.

تفسیر نتایج به طور خلاصه در جدول زیر نشان داده شده است:

Green	Yellow	Result
+	+/-	Positive
-	+	Negative
-	-	Inconclusive

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم SARS-CoV-2 بررسی شده است و معادل ۱۷ کپی در میکرولیتر می باشد. یعنی در ۹۵٪ مواردی که تیترو ویروس در نمونه مورد آزمایش بیش از این میزان باشد، توسط این کیت تشخیص داده خواهد شد. در صورت کاهش تیترو نمونه به کمتر از این میزان همچنان کیت قادر به تشخیص خواهد بود اما با ضریب اطمینان به مراتب کمتر.

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت‌های نوین ژن، دریافت فایل کامل دفترچه راهنمای کیت و فایل تمپلیت برای تنظیم دستگاه و آشنایی با نمایندگان فروش، به وبسایت ما به نشانی www.novingene.com مراجعه فرمایید یا QR Code موجود بر روی جعبه کیت را اسکن نمایید. جهت کسب اطلاعات بیشتر با پشتیبانی فنی تماس بگیرید.