

راهنمای کیت COVID-Flu RQ

کیت COVID-Flu RQ به منظور تشخیص RNA ویروس‌های کرونای عامل COVID-19 یا SARS-CoV-2 و آنفولانزا نوع A و B (بدون تفکیک نوع A و B) به روش Real-Time RT-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
CoV-Flu Mix	میکس RT-PCR*	۳۶۰ میکرولیتر
Resp A Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ 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 CoV-Flu 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 CoV-Flu Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR کنترل داخلی منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۷ تا ۳۵ می‌شود.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، یک لوله برای کنترل مثبت و یک لوله برای کنترل منفی (آب) نیز در نظر بگیرید.

به هر لوله ۱۵ میکرولیتر از **CoV-Flu 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 **CoV-Flu 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 RNA استخراج شده، **کنترل مثبت** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

درپوش لوله ها را ببندید. سپس آن ها را مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید. تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه **Rotor-Gene** از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید یا آن را مطابق جدول زیر برای تنظیم کنید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	50°C x 10 min	1
2	95°C x 3 min	1
3	95°C x 5 sec	45
	60°C x 30 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای کانال های سبز، زرد و نارنجی تنظیم شود.

جهت تنظیم دستگاه **StepOne** و یا سایر دستگاه ها 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 5 sec	45
	60°C x 40 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ های FAM، VIC، ROX تنظیم شود.

توجه داشته باشید که میکس فاقد ROX به عنوان نرمال کننده است. لذا گزینه استفاده از این رنگ به عنوان نرمال کننده (normalizer) باید غیرفعال باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به SARS-CoV-2 و افزایش تابش زرد (Yellow) مربوط به Influenza A/B و افزایش تابش نارنجی (Orange) حاصل از کنترل داخلی می باشد.

هنگام آنالیز برای دستگاه روتورژن آستانه را برای کانال های سبز، زرد و نارنجی روی ۰/۱ قرار دهید.

و برای آنالیز برای دستگاه استپ وان، آستانه را برای کانال FAM و VIC روی ۱۰۰۰ و برای کانال ROX روی ۳۰۰ قرار دهید.






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

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

Green	Yellow	Orange	Result
+	-	+/-	Positive for SARS-CoV-2
-	+	+/-	Positive for Flu A/B
-	-	+	Negative
-	-	-	Inconclusive

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم SARS-CoV-2، آنفلانزا A و B بررسی شده است. حساسیت برای SARS-CoV-2 معادل ۱۷ کپی و برای آنفلانزا A و آنفلانزا B معادل ۱۰ کپی در میکرولیتر میباشد. 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.

توضیحات برچسب:

دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید		تولید کننده		جهت مصارف پژوهشی	RUO
تاریخ انقضاء		تعداد <n> آزمون کافی		کدبهر (شماره بچ)	LOT
محدوده دمایی	 10°C / -30°C	شماره سریال	SN	شماره کاتالوگ	REF

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.