

راهنمای کیت Herpes RQ

کیت Herpes RQ برای تشخیص و تفکیک همزمان DNA پنج ویروس سیتومگالو ویروس (Cytomegalovirus, CMV)، ویروس هرپس سیمپلکس تایپ ۱ و ۲ (Herpes Simplex Virus, HSV)، ویروس اپشتین بار (Epstein-Barr virus, EBV) و ویروس واریسلا زوستر (Varicella Zoster Virus, VZV) به روش multiplex Real-Time PCR با دستگاه Rotor-Gene و MIC می باشد. دستگاه Real-Time PCR باید امکان تشخیص هم زمان تابش رنگ های FAM, VIC, ROX را داشته باشد. این کیت برای مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
CMV-EBV Mix	میکس PCR برای تشخیص CMV و EBV	۳۶۰ میکرولیتر
HSV-VZV Mix	میکس PCR برای تشخیص HSV-1 و HSV-2 و VZV	۳۶۰ میکرولیتر
HH Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ میکرولیتر
Internal Control	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 می باشد. کنترل داخلی را می باید در مرحله استخراج DNA استفاده نمایید. در صورت موفق بودن PCR کنترل داخلی با میکس CMV-EBV منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد و CT بین ۲۸ تا ۳۲ می شود.

روش استفاده: کیت محتوی ۲ نوع میکس می باشد که هر میکس ۲ یا ۳ نوع ویروس هرپس را تشخیص می دهد. بنابراین هر نمونه باید با هر دو میکس کیت آزمایش شود تا امکان تشخیص ۵ نوع ویروس هرپس فراهم شود.

مطابق شکل زیر دو سری لوله مخصوص PCR، هر سری برای یکی از میکس های PCR روی بلوک سرد بگذارید. در هر سری علاوه بر یک لوله برای هر یک از نمونه ها، ۲ لوله نیز برای شاهد های مثبت و نمونه آب یا NTC در نظر بگیرید.

به هر یک از لوله های سری اول ۱۵ میکرولیتر از **CMV-EBV Mix** اضافه کنید.

به هر یک از لوله های سری دوم ۱۵ میکرولیتر از **HSV-VZV Mix** اضافه کنید.

سپس ۱۰ میکرولیتر از **DNA** نمونه و یا **شاهد های مثبت و منفی (آب)** به هر لوله اضافه کنید. درپوش میکروتیوب ها را ببندید. سپس آن ها را مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید.

توجه: هنگام استفاده از دستگاه روتورژن، رینگ محافظ را نیز در پایان اضافه کنید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می توانید دستگاه را مطابق برنامه زیر تنظیم نمایید:

Step	Temperature/time	Cycles
1	95°C x 3 min	1
2	95°C x 20 sec	45
	60°C x 60 sec	

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

آنالیز نتایج: هر یک از میکس های موجود در کیت ۲ یا ۳ نوع هرپس ویروس را تشخیص می دهد. با توجه به اینکه نمونه با کدام میکس و در چه کانالی مثبت شده است، می توان نتیجه را تفسیر نمود.

نتیجه مثبت: در صورتیکه نمونه در کانال زرد با میکس CMV-EBV با CT بین ۲۸ تا ۳۲ مثبت باشد، آنگاه مطابق جدول زیر، نتایج را تفسیر کنید:

Mix	Green	Yellow	Orange	Result
CMV-EBV	+	+/-	-	Pos: EBV
CMV-EBV	-	+/-	+	Pos: CMV
HSV-VZV	+	-	-	Pos: HSV-1
HSV-VZV	-	+	-	Pos: HSV-2
HSV-VZV	-	-	+	Pos: VZV

نتیجه منفی: در صورتی که نمونه با میکس CMV-EBV در هر دو کانال سبز و نارنجی منفی باشد ولی در کانال زرد دارای منحنی سیگموئیدی و CT بین ۲۸ تا ۳۲ باشد، و همچنین نمونه با میکس HSV-VZV در هر سه کانال منفی باشد، فاقد ویروس در نظر گرفته می شود و مطابق جدول زیر می باشد:

Mix	Green	Yellow	Orange	Result
CMV-EBV	-	+	-	Negative
HSV-VZV	-	-	-	

نتیجه نامعتبر: در صورتی که نمونه در هر سه کانال سبز، زرد و نارنجی در دو میکس منفی باشد، آزمایش مطابق جدول زیر، نامعتبر بوده و باید تکرار شود:

Mix	Green	Yellow	Orange	Result
CMV-EBV	-	-	-	Invalid
HSV-VZV	-	-	-	

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت برای هر یک از ویروس های مورد مطالعه با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس بررسی شده است. این مقدار حساسیت برای CMV، HSV-1 و HSV-2، ۰/۵ کپی در میکرولیتر، و برای VZV و EBV، ۱ 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.

توضیحات برچسب:

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

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت های 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.