

# راهنمای کیت RQ I Resp

کیت RQ I Resp به منظور تشخیص RNA ویروس انفلونزا انسانی نوع A و B و ویروس RSV (Respiratory Syncytial Virus) و SARS-CoV-2 جهت مصارف تحقیقاتی به روش Real-Time RT-PCR طراحی شده است. این کیت همچنین حاوی کنترل داخلی می باشد که از گزارش منفی کاذب حاصل از ناکارآمدی استخراج RNA یا مهار PCR پیشگیری می کند.

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

برچسب	محتوا	حجم
Resp A Mix	میکس RT-PCR برای تشخیص RSV, Flu A, Flu B, SARS-CoV-2	۴۸۰ میکرولیتر
Resp A Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۵۰ 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.

**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 ۲۰ میکرولیتر از **Resp A Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **RNA استخراج شده، کنترل مثبت** یا آب به هر لوله اضافه کنید. درپوش لوله ها را بگذارید. 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 و سایر دستگاه های Real-Time PCR را می توانید مطابق برنامه 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	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ های FAM، VIC، ROX و Cy5 تنظیم شود.

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به **SARS-CoV-2** و تابش زرد (Yellow) مربوط به **Influenza A/B**، افزایش تابش قرمز (Red) مربوط به **RSV** و افزایش تابش نارنجی (Orange) حاصل از کنترل داخلی می باشد. هنگام آنالیز برای دستگاه روتورژن آستانه را برای کانال های سبز، زرد و قرمز و نارنجی روی ۰/۱ تنظیم نمایید.

همچنین 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.

بر اساس نکات بالا نتایج به طور خلاصه در جدول زیر نشان داده شده است:

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

**میزان حساسیت:** حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم هدف بررسی شده است و برای SARS-CoV-2 معادل ۱۳ کپی در میکرولیتر، برای انفلونزا A و B معادل ۱۰ کپی در میکرولیتر و برای RSV معادل ۹ 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](http://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.