

راهنمای کیت Resp II RQ

کیت Resp II RQ به منظور تشخیص RNA ویروس های SARS-CoV-2 ، انفلونزا انسانی نوع A و B (بدون تفکیک دو نوع از یکدیگر) ، ویروس Respiratory Syncytial Virus (RSV) و پارا انفلونزا نوع ۱ تا ۴ Human Parainfluenza Viruses (HPIV) 1-4 (با قابلیت تفکیک ۴ نوع از یکدیگر) 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 SARS-CoV-2, Flu A/Flu B, RSV	۴۸۰ میکرولیتر
Resp B Mix	میکس RT-PCR* برای تشخیص Human parainfluenza viruses (HPIV1-4)	۴۸۰ میکرولیتر
Resp A Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۵۰ میکرولیتر
Resp B 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، تیوب میکس Resp A حاوی کنترل داخلی می باشد.

روش استفاده: این کیت حاوی دو میکس می‌باشد. میکس A Resp برای تشخیص ویروس های SARS-CoV-2 انفلونزا A یا B و RSV و میکس B Resp جهت بررسی نمونه از نظر وجود چهار ویروس پارا انفلونزا نوع ۱ تا ۴ می‌باشد. به این منظور هر نمونه همزمان با دو میکس بررسی می‌شود. برای هر میکس یک سری لوله جداگانه قرار دهید. در هر سری علاوه بر تعداد نمونه‌های مورد آزمایش، یک میکروتیوب برای شاهد مثبت و یک میکروتیوب برای کنترل منفی (آب) نیز در نظر بگیرید.

به هر لوله سری اول ۲۰ میکرولیتر از **Resp A Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **RNA** استخراج شده، **Resp A Pos Ctrl** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

به هر لوله سری دوم ۲۰ میکرولیتر از **Resp B Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **RNA** استخراج شده، **Resp B Pos Ctrl** 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 می‌توانید 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:

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.






با توجه به نوع میکس و کانال ها نتایج به طور خلاصه در جدول زیر نشان داده شده است:

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

Resp B Mix				
Green	Yellow	Red	Orange	Result
+	-	-	-	Pos for HPIV-1
-	+	-	-	Pos for HPIV-2
-	-	-	+	Pos for HPIV-3
-	-	+	-	Pos for HPIV-4
-	-	-	-	Negative (if IC is Pos with Resp A in Orange channel)
If sample is Neg in Orange channel with Resp A Mix				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 است همچنین حساسیت برای پارا انفلونزا-۱ معادل ۴ کپی در میکرولیتر، برای پارا انفلونزا-۲ معادل ۴/۲ کپی در میکرولیتر می باشد. برای پارا انفلونزا-۳ معادل ۶/۸ کپی در میکرولیتر و برای پارا انفلونزا-۴ معادل ۴/۶ 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.