

راهنمای کیت STI-3 RQ

کیت STI RQ به منظور تشخیص DNA سه باکتری کلامیدیا تراکوماتیس (Chlamydia trachomatis)، نایسریا گونوره‌آ (Neisseria gonorrhoeae) و مایکوپلاسما ژنیتالیم (Mycoplasma genitalium) جهت مصارف تحقیقاتی به روش Real-Time PCR طراحی شده است. این کیت همچنین حاوی کنترل داخلی می‌باشد که از گزارش منفی کاذب حاصل از ناکارآمدی استخراج DNA یا مهار PCR پیشگیری می‌کند.

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

برچسب	محتوا	حجم
STI Mix A	میکس PCR برای تشخیص Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, Neisseria gonorrhoeae	۳۶۰ میکرولیتر
STI Pos 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 و یا مهار PCR و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، 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 STI Mix A اضافه می‌نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به STI Mix A اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید فلورسانس با تابش

زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۸ تا ۳۴ می‌شود. در این حالت کنترل داخلی موفق بودن PCR را نشان می‌دهد.

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.

در صورتی که کنترل داخلی را در حین استخراج وارد کرده اید، به هر لوله مستقیماً ۱۵ میکرولیتر از **STI Mix A** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **STI Mix A** اضافه نمایید، با توجه به توضیحات قسمت کنترل داخلی، آن را به میکس افزوده و ۱۵ میکرولیتر از مخلوط حاصل را به هر لوله منتقل کنید.

در پایان ۱۰ میکرولیتر از DNA 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	95°C x 3 min	1
2	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.

توجه داشته باشید که در این آزمایش **ROX** نباید به عنوان رنگ مرجع (*reference dye*) انتخاب شود.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به **Chlamydia Trachomatis** و افزایش تابش نارنجی (Orange) حاصل از **Mycoplasma Genitalium** و افزایش تابش قرمز (Red) مربوط به **Neisseria Gonorrhoeae** و تابش زرد (Yellow) مربوط به کنترل داخلی می‌باشد.

هنگام آنالیز برای دستگاه روتورژن آستانه را برای کانال‌های سبز، زرد و قرمز و نارنجی روی ۰/۱ تنظیم نمایید.

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

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

Green	Yellow	Red	Orange	Result
+	+	-	-	Pos for Chlamydia trachomatis
-	+	-	+	Pos for Mycoplasma genitalium
-	+	+	-	Pos for Neisseria gonorrhoeae
-	+	-	-	Negative
- / +	-	- / +	- / +	Inconclusive

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم بررسی شده است. برای کلامیدیا تراکوماتیس معادل ۲/۸ کپی در میکرولیتر می‌باشد و برای نایسریا گونوره‌آ معادل ۳/۸ کپی در میکرولیتر و برای مایکوپلازما ژنی‌تالیوم معادل ۴ کپی در میکرولیتر می‌باشد. یعنی در ۹۵٪ مواردی که تیترا باکتری در نمونه مورد

آزمایش بیش از این میزان باشد، توسط این کیت تشخیص داده خواهد شد. در صورت کاهش تیترا 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		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.