

راهنمای کیت Bacto-Fungal RQ

کیت Bacto-Fungal RQ به منظور تشخیص DNA باکتری های Mycobacterium tuberculosis complex و Streptococcus pneumoniae و قارچ های Aspergillus spp, Candida albicans, Cryptococcus neoformans و Pneumocystis jirovecii می باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی به روش Real-Time PCR طراحی شده است و حاوی کنترل داخلی می باشد که از گزارش منفی کاذب حاصل از ناکارآمدی استخراج DNA یا مهار PCR پیشگیری می کند.

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

برچسب	محتوا	حجم
Bacto A Mix	میکس PCR* برای تشخیص Mycobacterium tuberculosis complex, Streptococcus pneumoniae, and Internal Control	۳۶۰ میکرولیتر
Fungal A Mix	میکس PCR* برای تشخیص Aspergillus Spp, Candida albicans, Cryptococcus neoformans, and Pneumocystis Jirovecii	۳۶۰ میکرولیتر
Positive Ctrl	شاهد مثبت	۲۵۰ 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 می باشد. کنترل داخلی را می باید در

NG-WI-ASL-74-100-S

مرحله استخراج DNA استفاده نمایید. در صورت موفق بودن PCR، کنترل داخلی با میکس Bacto A منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد و CT بین ۲۸ تا ۳۲ می شود.

روش استفاده: این کیت حاوی دو میکس می باشد. میکس Bacto A برای تشخیص باکتری های *Streptococcus* و *Mycobacterium tuberculosis complex* و *pneumoniae* و همچنین بررسی کنترل داخلی با این میکس انجام می شود. میکس دوم Fungal A Mix جهت بررسی نمونه از نظر وجود قارچ های *Aspergillus* *Candida albicans.spp* و *Cryptococcus neoformans* و *Pneumocystis jirovecii* می باشد. هر نمونه باید جداگانه با هر دو میکس بررسی شود. برای هر میکس یک سری لوله جداگانه قرار دهید. در هر سری علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، یک میکروتیوب برای شاهد مثبت و یک میکروتیوب برای کنترل منفی (آب) نیز در نظر بگیرید.

به هر لوله سری اول ۱۵ میکرولیتر از **Bacto A Mix** اضافه کنید.

به هر لوله سری دوم ۱۵ میکرولیتر از **Fungal A Mix** اضافه کنید. سپس ۱۰

میکرولیتر از DNA استخراج شده، **شاهد 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 75 sec	

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

تحلیل نتایج: جهت تحلیل نتایج به دفترچه راهنمای کامل مراجعه فرمایید.

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:

Bacto A Mix			
Green	Yellow	Red	Result
+	- / +	-	Positive for Mycobacterium tuberculosis complex
-	- / +	+	Positive for Streptococcus pneumoniae
-	+	-	Negative
-	-	-	Inconclusive

Fungal A Mix				
Green	Yellow	Red	Orange	Result
+	-	-	-	Positive for Cryptococcus neoformans
-	+	-	-	Positive for Pneumocystis Jirovecii
-	-	+	-	Positive for Aspergillus Spp
-	-	-	+	Positive for Candida albicans
-	-	-	-	Negative if sample IC is <u>Positive</u>
-	-	-	-	Inconclusive (If sample is also <u>Negative</u> in all channels with Bacto A Mix)

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم باکتری ها و قارچ های مورد نظر بررسی شده است و برای Mycobacterium tuberculosis معادل ۱ کپی در میکرولیتر می باشد و برای Streptococcus pneumoniae معادل ۳۸ کپی در میکرولیتر و برای Candida albicans معادل ۲۴ کپی در میکرولیتر، برای Cryptococcus neoformans معادل ۱۸ کپی در میکرولیتر، برای Pneumocystis Jirovecii معادل ۲۱ کپی در میکرولیتر، برای Aspergillus Spp معادل ۸۷ کپی در میکرولیتر می باشد. یعنی در ۹۵٪ مواردی که تیتراژ عامل عفونی در نمونه مورد آزمایش بیش از این میزان باشد، توسط این کیت تشخیص داده خواهد شد. در صورت کاهش تیتراژ 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 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.