

Viga SARS CoV-2 and Influenza A/B Molecular Diagnostic Kit

Store at -20 °C in darkness

100 rxn

Cat NO: MD983007

By ROJE

Edition: 1/2021

2021 ROJETechnologies, all rights reserve

محتویات

۱۰۰ واکنش	اجزای کیت
۵۰۰ µl	Q-ROMAX, 4X
۴۰۰ µl	Pro II Mix
۱۰۰ µl	RTase, Recombinant Reverse Transcriptase, RNase H-Positive Control
۱۰۰ µl	Negative Control

شرح محصول

اساس کیت تشخیص مولکولی واکنش رونوشت بردار معکوس RT-PCR یک مرحله‌ای می‌باشد. قسمتی از توالی RNA عامل پاتوژن به cDNA تبدیل و سپس به عنوان الگوی واکنش PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد. محصول PCR حاصل، توسط یک پروب الیگونوکلئوتیدی که با یک رنگ فلورسنت لیبل شده، شناسایی می‌شود. این کیت، ژن N از SARS CoV-2 (ویروس کرونا جدید) و همچنین ژن M2 ویروس آنفلوانزای A و ژن NS1 ویروس آنفلوانزای B را شناسایی می‌کند. سایر بتاکرونا ویروس‌ها و سویه‌های دیگر ویروس آنفلوانزا با این کیت شناسایی نمی‌شوند.

جمع آوری نمونه

Viga SARS CoV-2 and Influenza A/B Molecular Diagnostic Kit همزمان اسیدنوکلئیک ویروس‌های Influenza A و Influenza B/SARS CoV-2 از نمونه‌های تنفسی می‌باشد. در مرحله نمونه برداری، نگهداری و انتقال نمونه‌ها باید دقت کافی بعمل آید. به صورت پیش فرض، نمونه آلوده در نظر گرفته می‌شود و جابه جایی باید با رعایت نکات کامل ایمنی زیستی صورت گیرد. سواب نمونه گیری باید از نوع نایلون یا داکرون و با دسته آلومینیومی یا پلاستیکی باشد. سواب پنبه ای به هیچ وجه توصیه نمی‌شود. بعد از نمونه گیری، سواب باید فوراً در داخل محیط مناسب انتقال ویروس نگهداری شود.

استخراج نمونه

به منظور استخراج اسیدنوکلئیک ویروسی می‌توان از کیت RNJia Virus Kit (REF: RN983072) و یا کیت‌های دیگر دارای تاییدیه وزارت بهداشت، استفاده کرد.

مراحل کار

تمامی اجزاء کیت را خارج کرده تا به دمای اتاق برسد. سپس هر کدام از آنها را قبل از مصرف، ورتکس مختصری نمایید. حجم نمونه تخلیص شده مورد استفاده در این تست باید ۱۰ میکرولیتر باشد. مطابق جدول ۱ اجزای واکنش را آماده کرده و طبق جدول ۲ برنامه Real-time PCR را اجرا کنید.

جدول ۱: آماده سازی اجزای واکنش به ازای یک واکنش

حجم	اجزاء مورد نیاز
۵ µl	Q-ROMAX, 4X
۱ µl	RTase, Recombinant Reverse Transcriptase
۴ µl	Pro II Mix
۱۰ µl	Isolated RNA

برای کروناویروس و ۱۵۰ کپی بر میلی لیتر برای آنفلونزای A و B می‌باشد.

محدودیت‌ها

- عملکرد مطلوب این تست به نحوه جمع آوری، حمل و نقل و نگهداری مناسب نمونه بستگی دارد.
- این کیت برای شناسایی ویروس‌های هدف در نمونه‌های سوآب و خلط دستگاه تنفسی مناسب است. نتیجه منفی تست، احتمال وجود SARS CoV-2 و ویروس آنفلونزای A یا B، را رد نمی‌کند، زیرا نتایج آزمایش ممکن است تحت تأثیر جمع آوری نادرست نمونه، خطای کاربر، نحوه مخلوط کردن نمونه یا مقادیر پایین ویروس (کمتر از میزان حساسیت کیت) باشد.

- وجود مهارکننده‌های PCR نیز می‌تواند موجب نتایج منفی کاذب شود.
- تنوع توالی ژنوم در ناحیه هدف انواع شناخته نشده این ویروس‌ها، ممکن است منجر به نتایج منفی کاذب یا حساسیت کمتر کیت شود. نتایج باید باتوجه به یافته‌های بالینی و سایر آزمایشات تفسیر شود.
- کمترین حد تشخیص برای Viga SARS CoV-2 and Influenza A/B Molecular Diagnostic Kit به ترتیب ۲۰۰ کپی بر میلی لیتر

- در صورت نیاز میزان آستانه را تنظیم کنید. جدول ۳ تفسیر داده‌ها با نمونه‌های بالینی را نشان می‌دهد.
- ارزیابی نتایج آزمایش نمونه بالینی باید پس از بررسی کنترل‌های مثبت و منفی و تایید قابل قبول بودن آن‌ها مشخص شود. اگر نتایج کنترل‌ها قابل قبول نباشد، نتایج بیمار قابل تفسیر نیست.
 - تغییر مقادیر Cq در کنترل مثبت می‌تواند نشان‌دهنده مهار جزئی PCR باشد.
 - مقادیر زیاد نمونه می‌تواند منجر به کاهش یا عدم وجود سیگنال فلورسانس شود.

جدول ۳: تفسیر نتایج

تفسیر	Cq Cy5	Cq Texas Red	Cq Yakima	Cq FAM	نتیجه
آنفلونزای A/B و کوید ۱۹ مثبت	منفی	Ct > 40	Ct > 40	Ct > 40	قابل قبول
منفی کاذب	منفی	منفی	منفی	منفی	غیر قابل قبول
آنفلونزای A مثبت	منفی	منفی	منفی	Ct > 40	قابل قبول
آنفلونزای B مثبت	منفی	منفی	Ct > 40	منفی	قابل قبول
کوید ۱۹ مثبت	منفی	Ct > 40	منفی	منفی	قابل قبول
کنترل منفی (آب)	منفی	منفی	منفی	منفی	قابل قبول
کنترل منفی استخراج	منفی	منفی	منفی	منفی	قابل قبول

جدول ۲: برنامه دمایی one-step Multiplex RT-PCR

مرحله	زمان	دما	تعداد سیکل
CDNA سنتز	۲۰ دقیقه	۵۰ درجه سانتیگراد	۱
فعال شدن آنزیم پلیمرز	۳ دقیقه	۹۰ درجه سانتیگراد	۱
واسرشته شدن	۱۰ ثانیه	۹۵ درجه سانتیگراد	۴۵
اتصال و تکثیر اسید نوکلئیک و اندازه گیری میزان فلورسانس در کانالهای سبز، زرد، نارنجی و قرمز	۴۵ ثانیه	۵۵ درجه سانتیگراد	
تکثیر	۱۵ ثانیه	۷۲ درجه سانتیگراد	
		ذاتیه	

آنالیز نتایج

- برای تجزیه و تحلیل نتایج PCR به دست آمده با کیت حاضر، کانال FAM را برای آنفلونزای A، کانال Yakima Yellow برای ویروس آنفلونزای B، کانال Texas Red برای SARS CoV-2 و کانال Cy5 را برای کنترل داخلی ژن RNase P انتخاب کنید.
- لطفا علاوه بر Cq، منحنی‌های تکثیر هر نمونه را نیز بررسی کنید. نمودار خطی و لگاریتمی نمونه‌ها باید هر دو بررسی و با کنترل منفی مقایسه شوند،