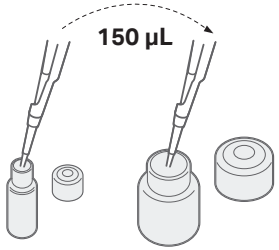
BAX® System Q7

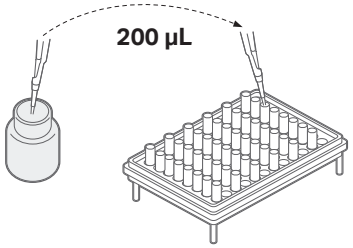
ขั้นตอนการทำ Real-Time PCR Assays*

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียม

ปิเปต protease 150 µL ลงใน lysis buffer 12 mL

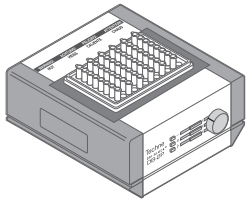


ปิเปต lysis reagent 200 µL ลงในหลอดคลัสเตอร์

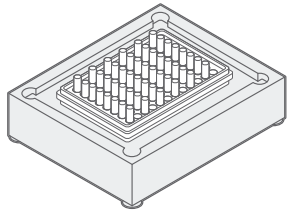


Lysis reagent สามารถเก็บที่ 2-8 °C ได้นาน 2 สัปดาห์

ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบล็อกความร้อน เปิดล่วงหน้าก่อนใช้งาน และมีอุณหภูมิอยู่ที่ 37 °C และ 95 °C

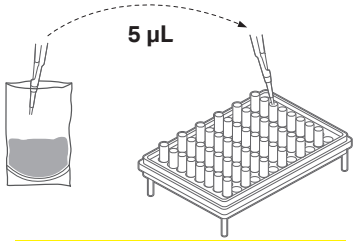


ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบล็อกความเย็น ถูกเก็บที่ 2 – 8 °C ล่วงหน้าก่อนใช้งาน



ขั้นตอนที่ 2: การไลซิส

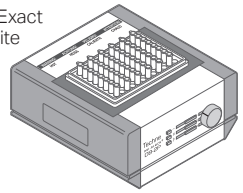
ปิเปตตัวอย่าง (enriched sample) 5 µL ลงในหลอดคลัสเตอร์



*สำหรับ *E. coli* O157:H7 ปิเปต 20 µL

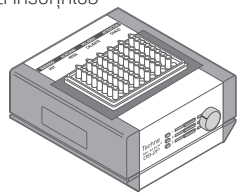
ให้ความร้อนหลอดคลัสเตอร์ (ขั้นตอนแรก)

ที่ 37 °C, 20 นาที:
Campylobacter
E. coli O157:H7 Exact
E. coli - STEC suite
Salmonella
Shigella
Vibrio

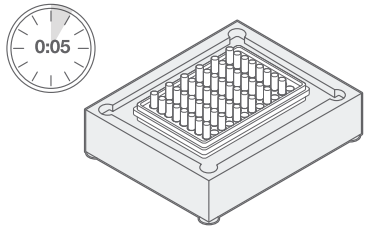


ให้ความร้อนหลอดคลัสเตอร์ (ขั้นตอนที่ 2)

ที่ 95 °C, 10 นาที:
สำหรับทุกเชื้อ



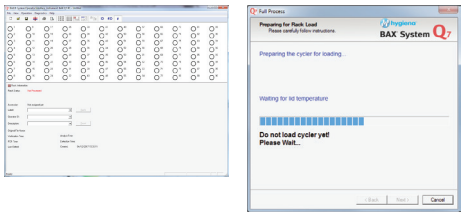
ทำให้หลอดคลัสเตอร์เย็นลงในบล็อกทำความเย็น เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที



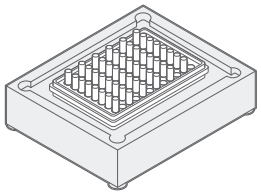
Lysates ปิดฝาที่ผ่านขั้นตอนนี้ สามารถเก็บที่ 2-8 °C ได้นาน 2 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 3: PCR

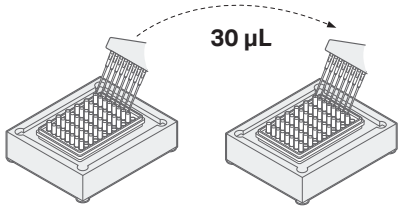
สร้างไฟล์, เปิดเครื่อง Cycler และดำเนินการให้เครื่องพร้อมทำงาน



นำหลอด PCR วางลงในถาดสีดำ (black carrying tray) ที่อยู่บนบล็อกทำความเย็น

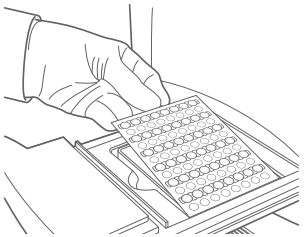


ปิเปต Lysate 30 µL ลงในหลอด PCR



สำหรับ Real-Time ***Salmonella*** และ ***E. coli* O157:H7**
หลังจากปิเปต Lysate ลงในหลอด PCR แล้วให้ไว้ในบล็อกเย็น
10-30 นาที ก่อนวางลงในเครื่อง Q7 Cycler.

ที่หน้าจอซอฟแวร์, กดปุ่ม "next",วางหลอด PCR ลงในเครื่อง Q7 cycler และ รันโปรแกรม



อ่านผลบนหน้าจอ ที่แสดงเครื่องหมายดังนี้

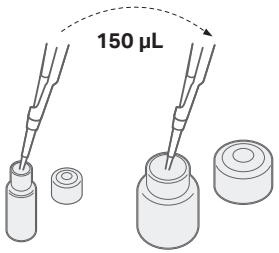
- ผลลบ
- ผลบวก
- ผลคลุมเครือ
- มีความผิดพลาด

BAX® System Q7

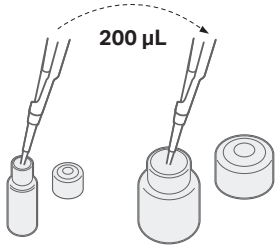
ขั้นตอนการทำ Real-Time Listeria PCR Assays

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียม

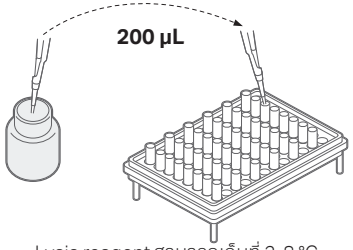
ปิเปต protease 150 µL ลงใน lysis buffer 12 mL



ปิเปต Lysing Agent2 200 µL ลงใน protease และ lysis buffer ที่ผสมกันในขั้นตอนแรก

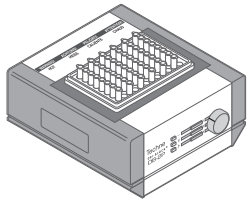


ปิเปต lysis reagent 200 µL ลงในหลอดคลัสเตอร์

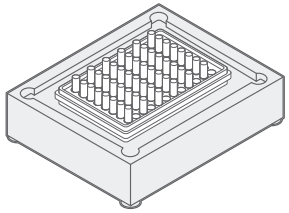


Lysis reagent สามารถเก็บที่ 2-8 °C ได้นาน 2 สัปดาห์

ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบล็อกความร้อนเปิดล่วงหน้าก่อนใช้งาน และมีอุณหภูมิอยู่ที่ 55 °C และ 95 °C

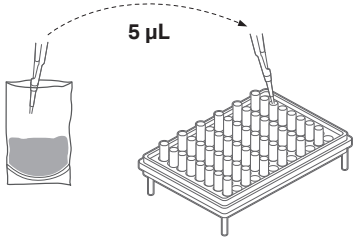


ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบล็อกความเย็นถูกเก็บที่ 2 – 8 °C ล่วงหน้าก่อนใช้งาน

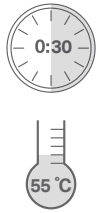


ขั้นตอนที่ 2: LYSIS

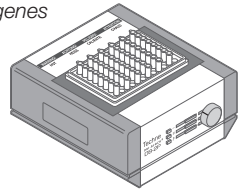
ปิเปตตัวอย่าง (enriched sample) 5 µL ลงในหลอดคลัสเตอร์



ให้ความร้อนหลอดคลัสเตอร์ (ขั้นตอนแรก)

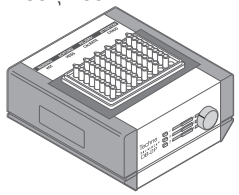


ที่ 55 °C ,30 นาที:
Genus *Listeria*
L. monocytogenes

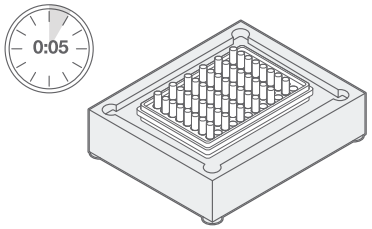


ให้ความร้อนหลอดคลัสเตอร์ (ขั้นตอนที่ 2)

ที่ 95° C ,10 นาที:
สำหรับทุกเชื้อ



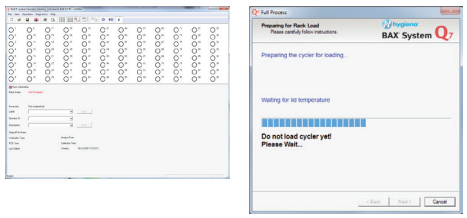
ทำให้หลอดคลัสเตอร์เย็นลงในบล็อกทำความเย็น เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที



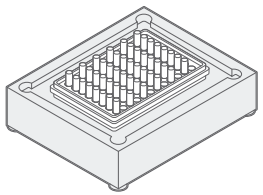
Lysates ปิดฝาที่ผ่านขั้นตอนนี้ สามารถเก็บที่ 2-8 °C ได้นาน 2 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 3: PCR

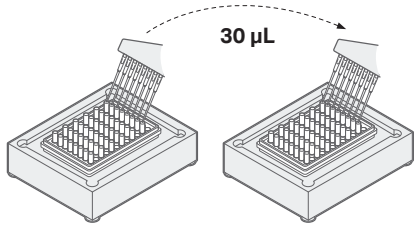
สร้างไฟล์, เปิดเครื่อง Cycler และดำเนินการให้เครื่องพร้อมทำงาน



นำหลอด PCR วางลงใน ถาดสีดำ (black carrying tray) ที่อยู่บนบล็อกทำความเย็น

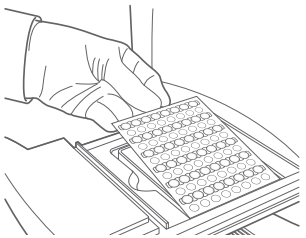


ปิเปต Lysate 30 µL ลงในหลอด PCR



คำแนะนำ: หลังจากปิเปต Lysate ลงในหลอด PCR แล้วให้ไว้ในบล็อคเย็น 10-30 นาที ก่อนวางลงในเครื่อง Q7 Cycler

ที่หน้าจอซอฟแวร์, กดปุ่ม "next", วางหลอด PCR ลงในเครื่อง Q7 cycler และ รันโปรแกรม



อ่านผลบนหน้าจอที่แสดงเครื่องหมายดังนี้

- ผลลบ
- ผลบวก
- ผลคลุมเครือ
- มีความผิดพลาด