

Technische Informatie Mastitis DNA-test

Principe van Quantitatieve PCR.

Quantitatieve real-time PCR (qPCR of Q-PCR) is een methode waarmee de hoeveelheid van een pathogeen gemeten kan worden. Q-PCR is de meest gebruikte methode voor een groot aantal diagnostische toepassingen vanwege de volgende voordelen:

- *Brede dynamische range*
 - Hiermee wordt bedoeld, dat zowel zeer kleine als zeer grote hoeveelheden van één of meer pathogenen in dezelfde reactie vastgesteld kunnen worden.
- *Accuratesse*
- *Hoge gevoeligheid*
- *Hoge specificiteit*

Tijdens de Q-PCR reactie wordt licht (fluorescentie) gemeten dat vrijkomt wanneer een pathogeen aanwezig is. Verschillende kleuren licht worden gebruikt om de diverse pathogenen uit elkaar te kunnen houden. De hoeveelheid licht die gemeten wordt is direct gekoppeld aan de hoeveelheid pathogeen die aanwezig is in een monster. Wanneer een pathogeen niet aanwezig is, zal geen licht gemeten worden.

Resultaten worden vastgesteld aan de hand van het moment dat het licht meetbaar wordt. Deze grenswaarde wordt aangeduid met Ct. Hoe kleiner de grenswaarde, des te meer pathogeen aanwezig was in een monster. In de mastitis test wordt gerapporteerd in een drietal klassen, te weten '+' (aanwezig in lage concentratie), '++' (in grote hoeveelheid aanwezig), '+++'' (in zeer grote hoeveelheid aanwezig). Deze klassen zijn direct gerelateerd aan de grenswaarde Ct die gemeten wordt.



dr. van haeringen [laboratorium b.v.](http://www.vanhaeringenlab.nl)

quality • service • know how

Voor aanvullende wetenschappelijke literatuur wordt verwezen naar onderstaande literatuur:

- Higuchi R, Fockler C, Dollinger G and Watson R, 1993. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (NY) Sep*; 11(9):1026-30.
- Kubista M, Andrade J, Bengtsson M, Forootan A, Jonák J, Lind K, Sindelka R, Sjögreen B, Strömbom L, Ståhlberg A and Zoric N, 2006. The Real-time polymerase chain reaction. *Mol. Aspect. Med* 27:95-125.
- Wong ML and Medrano JF, 2005. Real-time PCR for mRNA quantification. *Biotechniques* 39: 75-85.