

**RevoDx Набір для виявлення інфекцій, що передаються статевим шляхом ІПСШ-8**

**(RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit)**

**Інструкція з використання**

**Якісне виявлення ДНК збудників інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ)**

**Для використання у діагностиці *in vitro***

**Тільки для професійного використання**

**Каталожні номери:**

**IP202318-24 – 24 тести**

**IP202318-48 – 48 тестів**

**Склад набору**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Назва компонента** | **24 тести** | **48 тестів** |
| **1** | ІПСШ ММ1, (STI MM 1) | 336 мкл | 672 мкл |
| **2** | ІПСШ ММ2, (STI MM 2) | 336 мкл | 672 мкл |
| **3** | ІПСШ ММ3, (STI MM 3) | 336 мкл | 672 мкл |
| **4** | Суміш ферментів ІПСШ (STI Enzyme Mix) | 72 мкл | 144 мкл |
| **5** | Позитивний контрольний зразок ІПСШ, (STI Positive Control) | 100 мкл | 100 мкл |
| **6** | Негативний контрольний зразок ІПСШ, (STI Negative Control) | 100 мкл | 100 мкл |

**Транспортування, зберігання та стабільність**

Набори постачаються в замороженому вигляді. Усі компоненти набору RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit слід зберігати при температурі від -25°C до -15°C. Слід уникати зберігання при більш високих температурах. За умов належного зберігання всі компоненти набору залишаються стабільними до закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці продукту. Реагент STI Enzyme Mix не можна заморожувати-розморожувати більше 3 разів, це може призвести до зниження чутливості набору. При необхідності збільшення кількості циклів заморожування-розморожування, розділіть набір на кілька аліквот зручного об’єму та зберігайте при температурі від -25°C до -15°C.

**Передбачене икористання**

RevoDx Набір для виявлення збудників ІПСШ STI-8 (RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit) - це ПЛР-тест в режимі реального часу, призначений для якісного виявлення та ідентифікації нуклеїнових кислот специфічних бактеріальних та протозойних патогенів у зразках сечі, урогенітальних мазках або мазках з шийки матки, отриманих як від симптомних, так і від безсимптомних пацієнтів.

Позитивні результати не виключають коінфекції з іншими патогенами. Виявлений збудник може не бути остаточною причиною захворювання. Негативні результати не виключають наявність інфекції і не повинні використовуватися як єдина підстава для прийняття рішень щодо лікування пацієнта. Негативні результати повинні поєднуватися з клінічними спостереженнями, історією хвороби та епідеміологічною інформацією.

Набір для виявлення збудників ІПСШ RevoDx STI-8 призначений для використання кваліфікованим і підготовленим персоналом клінічних лабораторій, спеціально проінструктованим і навченим методам ПЛР в реальному часі і процедурам діагностики in vitro.

Набір для виявлення бактеріальних та протозойних патогенів RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit виявляє наступні збудники:

|  |
| --- |
| **Бактерії** |
| * *Neisseria gonorrhoeae* * *Chlamydia trachomatis* * *Mycoplasma genitalium* * *Mycoplasma hominis* * *Ureaplasma urealytıcum* * *Ureaplasma parvum* * *Gardnerella vaginalis* |
| **Найпростіші** |
| * *Trichomonas vaginalis* |

**Обмеження щодо використання продукту**

* Тільки для діагностики *in vitro*
* Потенційні мутації в цільових ділянках геномів патогенів, що покриваються олігонуклеотидами набору, можуть призвести до хибнонегативних результатів тесту.
* Цей набір валідований для використання зі зразками сечі, урогенітальними мазками або мазками з шийки матки. Тестування з іншими типами зразків може призвести до неточних результатів.
* Інгібітори ПЛР в елюатах можуть призвести до хибнонегативних або недійсних результатів тесту.
* Для отримання достовірних результатів необхідно дотримуватись правильних методів збору, транспортування, зберігання та обробки зразків.
* Набір призначений для професійного використання кваліфікованим персоналом, що пройшов відповідне навчання.
* Дотримуйтеся інструкцій з використання до наборів для отримання оптимальних результатів ПЛР.
* Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності. Компоненти набору з різних серій не можна змішувати.

**Опис продукту**

Мультиплексна ПЛР у реальному часі технічно здатна виявляти одночасно декілька типів мікроорганізмів у різних типах зразків. Чутливість та специфічність цього методу досить висока, а час виявлення короткий, що корисно для раннього виявлення інфекцій. RevoDx STI-8 –- це ПЛР-аналіз на основі TagMan-технології, в якому між двома праймерами ПЛР знаходиться внутрішній олігонуклеотидний зонд з флуоресцентною міткою на 5'-кінці і молекулою гасника на 3'-кінці. Під час реплікації ДНК у ході ПЛР, мічений флуоресцентним барвником зонд гібридизується з ДНК-матрицею і руйнується 5'-3' ендонуклеазною активністю ДНК-полімерази *Thermus aquaticus* (Taq) в міру подовження праймера ПЛР. Зонд розщеплюється лише тоді, коли відбувається реплікація ДНК, при чому відбувається розділення молекули флуоресцентного барвника та молекули гасника. Утворені продукти ПЛР можна виявити протягом кількох хвилин завдяки підвищенню рівня флуоресценції, яке відбувається експоненціально з кожним наступним циклом ампліфікації у ході ПЛР. Параметр Ct (пороговий цикл) – це номер циклу ампліфікації, при якому флуоресценція реакційної суміші перевищує фіксоване порогове значення.

Метод виконується безпосередньо на ДНК, виділеній із зразків пацієнта. Виявлення ДНК збудників ІПСШ здійснюється за допомогою 3 різних реакцій, в яких одночасно виявляється РНКаза Р людини в якості внутрішнього контролю, який контролює виділення та ампліфікацію мішені. У наступній таблиці наведено перелік патогенів-мішеней у 3 різних реакційних пробірках:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Пробірка №** | **Цільовий організм** | **Канал детекції** |
| **ІПСШ MM 1** | *Chlamydia trachomatis* | FAM |
| *Neisseria gonorrhoeae* | HEX |
| *Mycoplasma hominis* | ROX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |
| **ІПСШ MM 2** | *Ureaplasma urealyticum* | FAM |
| *Mycoplasma genitalium* | HEX |
| *Ureaplasma parvum* | ROX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |
| **ІПСШ MM 3** | *Trichomonas vaginalis* | FAM |
| *Gardnerella vaginalis* | HEX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |

# Прилади

Набір RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit можна використовувати із ампліфікаторами для ПЛР у реальному часі BIO-RAD CFX96, Applied Biosystems QuantStudio5, а також приладами ДНК-технології серії ДТ (DT-prime, DT-lite). Але RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit також може бути сумісним з більшістю ампліфікаторів для ПЛР у реальному часі з каналами FAM, HEX, ROX і Cy5.

# Загальний опис

Інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), є основною причиною безпліддя, тривалих захворювань, позаматкової вагітності та передчасних пологів. Вони підвищують ризик розвитку раку статевих органів і є важким медичним, соціальним та економічним тягарем для тисяч дорослих і немовлят у всьому світі (1).

ІПСШ можуть викликати різні збудники –- бактерії, віруси, грибки та найпростіші. Затримка в діагностиці є одним із факторів, що пояснює труднощі в боротьбі з цими інфекціями. Багато людей з ІПСШ не мають жодних ознак чи симптомів. Людина може почуватися здоровою і не знати, що має ІПСШ. Єдиний спосіб дізнатися про наявність ІПСШ –- це пройти тестування (2).

Програми, спрямовані на розширення скринінгу та тестування на ІПСШ, можуть оцінити ризик інфікування ІПСШ і допомогти людям з ІПСШ отримати лікування, покращити стан їхнього здоров'я та зменшити ймовірність поширення ІПСШ серед інших людей. Лікування ІПСШ, відмінних від ВІЛ, може допомогти запобігти ускладненням від ІПСШ, але не запобігає поширенню ВІЛ (3).

**Список джерел**

1. Warr, A. J., Pintye, J., Kinuthia, J., Drake, A. L., Unger, J. A., Mcclelland, R. S., et al. (2019). Sexually transmitted infections during pregnancy and subsequent risk of stillbirth and infant mortality in Kenya: a prospective study. Sex. Transm. Infect. 95, 60–66. doi: 10.1136/sextrans-2018- 053597

2. Scapaticci M, Rin G Da, Bartolini A (2020) Comparison between a novel molecular tool and conventional methods for diagnostic classification of bacterial vaginosis: is integration of the two approaches necessary for a better evaluation? New Microbiol 43: 121–126.

3. Centers for Disease Control and Prevention. (2019). STDs and HIV — CDC Fact Sheet. Отримано з <https://www.cdc.gov/std/hiv/stdfact-std-hiv.htm>

# Інформація про безпеку

* Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; з ними слід працювати в зоні біобезпеки 1-го або 2-го рівня, залежно від збудника інфекції.
* Усі отримані відходи слід вважати потенційно інфекційними. З ними слід поводитись та утилізувати відповідно до місцевих правил безпеки.
* Уникайте будь-якого контакту шкіри з реагентами набору. У випадку контакту ретельно промити водою.
* Уникайте розбризкування та утворення аерозолів.
* Після роботи із клінічними зразками та реагентами необхідно мити руки.
* Інформацію стосовно хімічного складу та безпечності реагентів тощо (MSDS information) можна отримати від виробника чи його представника за запитом.
* При роботі в лабораторії використовувати ЗІЗ.
* На початку та вкінці роботи дезінфікуйте усі робочі поверхні знезаражуючими розчинами.
* Переконайтесь що усі розхідні матеріали мають маркування DNase/RNase-free.
* Поводьтеся з усіма матеріалами відповідно до правил роботи в лаборіях, що проводять дослідження молекулярно-генетичними методами, щоб запобігти перехресній контамінації.
* Використовуйте тільки повірені/калібровані дозатори та наконечники з аерозольним фільтром.
* Зберігайте набір подалі від джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо продуктами ампліфікації.
* Усі маніпуляції варто проводити в окремих зонах (екстракція НК, приготування реакційних сумішей, ампліфікація).
* Усе обладнання та витратні матеріали для конкретної операції повинні знаходитися в зоні, де виконується ця операція, і не повинні переміщатися між різними зонами. Рукавички слід змінювати при переході у кожну зону. Лабораторні халати повинні бути окремими для кожної зони і їх не можна носити за межами цієї зони.
* Роботи повинні виконуватись в одному напрямку, починаючи із зони екстракції НК і закінчуючи відповідними зонами використання.

**Характеристики набору**

**Аналітична чутливість:**

Для визначення межі виявлення (Limit of Detection, LoD) була підготовлена серія розведень кожного збудника для отримання кінцевих концентрацій 2430, 810, 270, 90 і 30 КУО/мл або МО/мл, або копій/мл шляхом розведення зразків сечі, відібраних у здорових осіб, щоб імітувати клінічні зразки. ДНК збудника очищали за допомогою набору RevoDx для очищення ДНК бактерій (RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria). Кожне розведення тестували в 24 повтореннях. Значення межі виявлення (LoD) розраховували за допомогою пробіт-аналізу. Межа виявлення (LoD) становила 200 КУО/мл, це значення LoD було підтверджено тестуванням додаткових 20 повторів з розведенням 200 КУО/мл або МО/мл, або копій/мл. Всі 20 повторів дали позитивні результати для кожної мішені, і, таким чином, було підтверджено, що LoD становить 200 КУО/мл або МО/мл, або копій/мл.

**Інклюзивність:**

Аналіз інклюзивності *in silico* праймерів та зондів RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit був проведений для послідовностей кожного збудника, доступних у базах даних NCBI. Порівняння показало, що ділянки, охоплені обраними праймерами та зондами, мають 100% гомологію з усіма доступними послідовностями патогенів з баз/банків даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI).

**Перехресна реактивність:**

Перехресна реактивність набору для виявлення збудників ІПСШ RevoDx STI-8 була оцінена як за допомогою аналізу *in silico*, так і за допомогою тестування методом ПЛР. Аналіз *in silico* праймерів і зондів проти послідовностей 28 патогенів показав, що набір є специфічним для цільових генів збудників-мішеней і не буде перехресно реагувати з іншими патогенами. Перераховані нижче 28 збудників були протестовані на перехресну реактивність методом ПЛР за допомогою набору RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit. Хибнопозитивних результатів не спостерігалося.

Нижче наведені результати дослідження перехресної реактивності, як *in silico*, так і методом ПЛР.

**Аналіз перехресної реактивності *in silico***

|  |  |
| --- | --- |
| **Організм** | **Результат** |
| *Pseudomonas aeruginosa* | Немає гомології |
| *Klebsiella pneumonia* | Немає гомології |
| *Enterobacter cloacae* | Немає гомології |
| *Acinetobacter baumannii* | Немає гомології |
| *Stenotrophomonas maltophilia* | Немає гомології |
| *Staphyloccocus aureus* | Немає гомології |
| *Enterococcus faecalis* | Немає гомології |
| *Enterococcus faecium* | Немає гомології |
| *Bacillus subtilis* | Немає гомології |
| *Chlamydia pneumoniae* | Немає гомології |
| *Legionella pneumophila* | Немає гомології |
| *Streptococcus salivarius* | Немає гомології |
| *Streptococcus pyogenes* | Немає гомології |
| *Bordetella pertussis* | Немає гомології |
| *Mycoplasma pneumoniae* | Немає гомології |
| *Pneumocystis jirovecii* (PJP) | Немає гомології |
| *Enterococcus dispar* | Немає гомології |
| *Proteus spp.* | Немає гомології |
| *Saccharomyces cerevisiae* | Немає гомології |
| *Schizosaccharomyces pombe* | Немає гомології |
| *Aspergillus niger* | Немає гомології |
| *Salmonella spp.* | Немає гомології |
| *Serratia marcescens* | Немає гомології |
| Вірус парагрипу 1-4 | Немає гомології |
| Вірус грипу A та B | Немає гомології |
| Респіраторно-синцитіальний вірус | Немає гомології |
| Аденовірус (напр. C1 Ad. 71) | Немає гомології |
| Метапневмовірус людини (hMPV) | Немає гомології |

**Перевірка перехресної реактивності методом ПЛР**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Організм** | **Джерело** | **Концентрація** | **Результат** |
| *Pseudomonas aeruginosa* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Klebsiella pneumonia* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Enterobacter cloacae* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Acinetobacter baumannii* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Stenotrophomonas maltophilia* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Staphyloccocus aureus* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Enterococcus faecalis* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Enterococcus faecium* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Chlamydia pneumoniae* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Legionella pneumophila* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Streptococcus pyogenes* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Bordetella pertussis* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Mycoplasma pneumoniae* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Pneumocystis jirovecii* (PJP) | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Enterococcus dispar* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| *Aspergillus niger* | Клінічний зразок | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Коронавірус людини (229E) | NIBSC (кат. №: 09/132) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Аденовірус людини | NIBSC (кат. №: 16/324) | 2.0×10 МО/мл8 | Не виявлено |
| Вірус грипу (A/Christchurch/1/2003, H1N1) | NIBSC (кат. №: 07/296) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус грипу (A/Wyoming/3/2003, H3N2) | NIBSC (кат. №: 07/298) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус грипу (B/Jiangsu/10/2003) | NIBSC (кат. №: 07/300) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус імунодефіциту людини 1 (ВІЛ-1) | NIBSC (кат. №: 16/194) | 1.25×10 МО/мл5 | Не виявлено |
| Вірус імунодефіциту людини 2 (ВІЛ-2) | NIBSC (кат. №: 16/296) | 2,8×10 МО/мл5 | Не виявлено |
| Респіраторно-синцитіальний вірус людини A2 | NIBSC (кат. №: 08/120) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус парагрипу типу 1 | NIBSC (кат. №: 08/176) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус парагрипу типу 2 | NIBSC (кат. №: 08/178) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус парагрипу типу 3 | NIBSC (кат. №: 08/118) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус парагрипу типу 4 | NIBSC (кат. №: 08/180) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |

**Порівняльні клінічні випробування:**

Ефективність роботи набору для виявлення збудників ІПСШ RevoDx STI-8 оцінювали за допомогою архівних зразків сечі, урогенітальних мазків або мазків з шийки матки. Для кожного збудника було протестовано загалом 20 позитивних і 20 негативних зразків у рандомізованому сліпому дослідженні. Всі 20 позитивних зразків і 20 негативних зразків були отримані з лабораторії державної лікарні і попередньо протестовані за допомогою валідованого порівняльного аналізу. Зразки були виділені за допомогою RevoDx для очищення ДНК бактерій (RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria) відповідно до інструкції до продукту. Потім проводили аналіз методом ПЛР за допомогою набору RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit відповідно до інструкції з експлуатації. Для ампліфікації, детектування та аналізу використовували ПЛР-ампліфікатор BIO-RAD CFX96.

За результатами тестування отримали 100% збіг з очікуваними результатами.

**Додаткові матеріали та обладнання**

* Набір для виділення ДНК/РНК патогенів RevoDx (RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit, Cat. №: IP202302; ІdilВiotech, Туреччина) або набір для магнітного виділення ДНК/РНК патогенів RevoDx (RevoDx Magnetic Pathogen DNA/RNA Purification Kit, Cat. №: IP202303; ІdilВiotech, Туреччина) або реагент для виділення ДНК/РНК патогенів DirEXT OneStep (Cat. №: IP202319; ІdilВiotech, Туреччина)
* Ампліфікатор для ПЛР у режимі реального часу
* Відповідні ЗІЗ (халат, рукавички, окуляри, тощо)
* Мікропіпетки (0.5 мкл – 1000 мкл)
* Наконечники для дозаторів з аерозольним фільтром та маркуванням DNase/RNase-free
* Мікропробірки 1,5 мл з маркуванням DNase/RNase-free
* Вихровий змішувач (вортекс)
* Настільна мікроцентрифуга для ПЛР-планшетів/стрип-пробірок
* Настільна мікроцентрифуга для пробірок об'ємом 1,5-2,0 мл
* Пробірки або планшети для ПЛР у реальному часі.

# Підготовка зразків

Набір валідований для використання зі зразками сечі, урогенітальниими мазками або мазками з шийки матки. Крім того, всі зразки нуклеїнових кислот, які підходять для аналізів методом ПЛР, можна використовувати з набором RevoDx STI-8 Pathogen Detection Kit. Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; під час забору та обробки зразків необхідно дотримуватись запобіжних заходів

Клініцисти (а також фельдшери, медсестри, лікарі та спеціалісти, пов’язані із медициною) несуть відповідальність за використання правильної процедури під час збору та безпечного транспортування зразків до лабораторії. Достовірність результатів тестування значною мірою залежить від належної практики на етапі «попереднього тестування», і дуже важливо, щоб відповідна документація була точною та повною.

Після збору не зберігайте зразки при кімнатній температурі довше 4 годин. Транспортування зразків повинно відповідати національним або місцевим правилам.

# Протокол

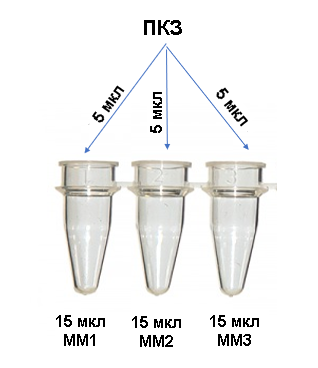
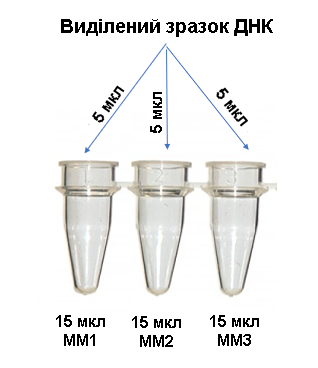
**Виділення ДНК:** Для виділення ДНК збудника із зразків сечі, урогенітальних мазків або мазків з шийки матки слід використовувати набір RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit або RevoDx Magnetic Pathogen DNA/RNA Purification Kit, або реагент DirEXT OneStep Pathogen DNA/RNA Extraction Reagent. Використання інших реагентів може негативно вплинути на характеристики набору. Будь ласка, дотримуйтесь інструкцій виробника обраного набору для виділення НК. В ідеалі операції повинні проводитися в трьох окремих зонах (для виділення ДНК/РНК, приготування реагентів для ПЛР, ампліфікації), щоб запобігти контамінації.

**Внутрішній контроль:** Внутрішній контроль (ВК), мішенню якого є РНКаза Р людини, потрібен для підтвердження потраплення виділеної ДНК у реакційні пробірки. Внутрішній контроль використовується для моніторингу ефективності етапу екстракції ДНК, а також для перевірки будь-якого інгібування ПЛР.

**Позитивний контроль:** Значення Ct позитивного контролю має дорівнювати 25 ± 4, інші значення вказують на наявність проблем.

**Протокол ПЛР**

1. Розморозьте всі компоненти при кімнатній температурі, крім STI Enzyme Mix. Покладіть суміш ферментів STI на лід. Ретельно перемішайте кожен компонент, потім осадіть краплі короткочасним центрифугуванням. Перенесіть усі реагенти на лід або охолоджуючий блок.
2. Кінцевий об’єм реакційної суміші (Master Mix) отримується шляхом множення окремих реакційних об’ємів STI MM 1-3 та STI Enzyme Mix на загальну кількість зразків (досліджувані клінічні зразки плюс ПКЗ та НКЗ). Для уникнення похибок при розкапуванні рекомендується додати додатковий зразок при підрахунку загальної кількості зразків.
3. Підготуйте три пробірки 1,5 мл для кожної з реакційних сумішей STI MM 1-3. Для приготування кожної майстер-суміші додайте 14 мкл STI MM і 1 мкл STI Enzyme Mix для кожного зразка у підготовані пробірки. Після приготування майстер-міксів обережно перемішати суміш піпетуванням або на вортексі та осадити краплі короткочасним центрифугуванням. Внести по 15 мкл кожної приготованої суміші у пробірки/планшет для ПЛР. Для кожного клінічного зразка слід використовувати 3 лунки (з різними сумішами 1, 2, 3). Після внесення майстер-міксів у лунки додайте по 5 мкл екстрагованої ДНК у кожну лунку, як показано на малюнку нижче. Внести по 5 мкл ПКЗ та НКЗ у відповідні пробірки. Закрити кришки чи заклеїти планшет та осадити краплі центрифугуванням.
4. Повторіть крок 3 для кожного екстрагованого зразка, негативного та позитивного контролю.



**5.** Запрограмуйте прилад для ампліфікації згідно протоколу, наведеного у таблиці 1. Вказати об’єм зразка 20 мкл.

**Таблиця 4:** Програма ампліфікації

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Назва етапу** | **Кількість циклів** | **Температура** | **Час** |
| Активація полімерази | 1 | 95ºC | 2 хв |
| Ампліфікація | 40 | 95ºC | 10 сек |
| 60ºC\* | 20 сек |

**\* Детекція флуоресценції при 60°C за каналами** **FAM, HEX, ROX та Cy 5**

**5.** Обрати вимірювання рівня флуоресценції при 60°C за каналами FAM, HEX, ROX та Cy 5.

**6.** Запустити програму.

**7.** Програмування приладу та аналіз результатів здійснювати відповідно до інструкції виробника.

# Аналіз даних

Значення Ct для ПКЗ повинно дорівнювати 25±4, а НКЗ у всіх каналах повинен бути негативним. В іншому випадку експеримент слід повторити.

Результати для кожного майстер-міксу інтерпретувати наступним чином:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Сигнал по будь-якому каналу FAM / HEX / ROX** | **Сигнал по каналу**  **Cy 5 (ген РНКази Р)** | **Інтерпретація** |
| **+** | **+/-** | Позитивний на специфічний збудник |
| **-** | **+** | Результат валідний. Збудник не виявлено |
| **-** | **-** | Невалідний результат. Зразок слід повторно протестувати для цього майстер-міксу |

Для кожного майстер-міксу в наступній таблиці наведено канали барвника для відповідного цільового організму/цільового гена:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Пробірка №** | **Цільовий організм** | **Канал детекції** |
| **ІПСШ ММ 1**  **(STI MM1)** | *Chlamydia trachomatis* | FAM |
| *Neisseria gonorrhoeae* | HEX |
| *Mycoplasma hominis* | ROX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |
| **ІПСШ ММ 2**  **(STI MM2)** | *Ureaplasma urealyticum* | FAM |
| *Mycoplasma genitalium* | HEX |
| *Ureaplasma parvum* | ROX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |
| **ІПСШ ММ 3**  **(STI MM3)** | *Trichomonas vaginalis* | FAM |
| *Gardnerella vaginalis* | HEX |
| Внутрішній контроль | Cy 5 |

**Інформація для замовлення**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Назва продукту** | **Фасування** | **Каталожний номер** | **Штрихкод №.** |
| Набір для виявлення патогенів RevoDx STI-8 | 24 тести | IP202318-24 | 8683079717691 |
| Набір для виявлення патогенів RevoDx STI-8 | 48 тестів | IP202318-48 | 8683079717707 |