



Med·Bio·Agro
LABORATORIES

RevoDx Набір для виявлення інфекцій, що передаються статевим шляхом ПЛЮС **RevoDx** STI Pathogen PLUS Detection Kit

Інструкція з використання

**Якісне виявлення ДНК збудників інфекцій, що передаються
статевим шляхом (ІПСШ)
Для діагностики *in vitro*
Тільки для професійного використання**

**Каталожні номери:
IP202504-24 – 24 тести
IP202504-48 – 48 тестів**



Склад набору

	Компонент	24 тести	48 тестів
1	STI PLUS MM 1	336 мкл	672 мкл
2	STI PLUS MM 2	336 мкл	672 мкл
3	STI PLUS MM 3	336 мкл	672 мкл
4	STI PLUS MM 4	336 мкл	672 мкл
5	STI PLUS MM 5	336 мкл	672 мкл
6	STI PLUS MM 6	336 мкл	672 мкл
7	STI PLUS Enzyme Mix	144 мкл	288 мкл
8	Позитивний контрольний зразок STI PLUS Positive Control	200 мкл	400 мкл
9	Негативний контрольний зразок STI PLUS Negative Control	200 мкл	400 мкл

Транспортування, зберігання та стабільність

Набори можна транспортувати при температурі від +2°C до +8°C. Після отримання, всі компоненти набору RevoDx STI Pathogen PLUS 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. Реагенти STI PLUS MM не можна заморозувати та 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 використання

RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit — це ПЛР-тест у реальному часі, призначений для якісного виявлення та диференціації нуклеїнових кислот специфічних бактеріальних, вірусних, протозойних та грибкових патогенів у зразках сечі, уrogenітальних та цервікальних змивах у пацієнтів, що мають та не мають симптоми.

Позитивні результати не виключають коінфекції з іншими патогенами. Виявлений збудник може не бути остаточною причиною захворювання. Негативні результати не виключають інфікування і не повинні використовуватися як єдина основа для прийняття рішень про лікування пацієнта. Негативні результати необхідно поєднувати з клінічними спостереженнями, історією захворювання та епідеміологічною інформацією. Набір RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit призначений для професійного використання кваліфікованим лабораторним персоналом, що пройшов навчання методам ПЛР у реальному часі та процедурам для діагностики *in vitro*.

Набір RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit дозволяє виявлення наступних патогенів:

Бактерії
• <i>Neisseria Gonorrhoeae</i> • <i>Chlamydia Trachomatis</i> serovars A-K • <i>Chlamydia Trachomatis</i> serovars L1/L2/L3 • <i>Mycoplasma Genitalium</i> • <i>Mycoplasma Hominis</i> • <i>Ureaplasma Urealyticum</i> • <i>Ureaplasma Parvum</i> • <i>Treponema Pallidum</i> • <i>Gardnerella Vaginalis</i> • <i>Haemophilus Ducreyi</i> • <i>Streptococcus agalactiae</i>
Віруси
• Вірус простого герпесу тип 1 (HSV1) • Вірус простого герпесу тип 2 (HSV2)
Гриби
• <i>Candida albicans</i> • <i>Candida glabrata</i> • <i>Candida parapsilosis</i> • <i>Candida tropicalis</i>
Найпростіші
• <i>Trichomonas Vaginalis</i>

Обмеження щодо використання набору

- Використовувати лише за призначенням.
- Набір призначений для діагностики *in vitro*.

- Потенційні мутації в цільових областях геному патогенів, що залучені у реакції, можуть призвести до хибнонегативних результатів тесту.
- Набір призначений для тестування зразків сечі, урогенітальних та цервікальних змивів. Використання інших типів зразків може призвести до хибних результатів.
- Інгібітори ПЛР в елюатах можуть призвести до хибнонегативних або невалідних 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 дозволяє одночасно виявляти багато типів мікроорганізмів. При цьому чутливість та специфічність методу висока, а час детекції короткий. Таким чином цей тип аналізу є корисним для виявлення ранніх госпітальних інфекцій.

RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit — це ПЛР-аналіз на основі TagMan-технології, яка передбачає використання спеціального зонду з флуоресцентною міткою на 5'-кінці і молекулою гасника на 3'-кінці. Під час реплікації ДНК у ході ПЛР, мічений флуоресцентним барвником зонд гібридується 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, виділений із зразків пацієнта. Виявлення ДНК збудників ІПСШ здійснюється за допомогою 6 різних реакцій, в яких одночасно виявляється РНКаз Р людини в якості внутрішнього контролю, який контролює виділення та ампліфікацію мішені.

У наступній таблиці наведено перелік патогенів-мішеней у 6 різних реакційних пробірках:

Пробірка	Цільовий організм	Канал детекції
STI PLUS MM 1	<i>Candida parapsilosis</i>	FAM
	<i>Neisseria Gonorrhoeae</i>	HEX
	<i>Mycoplasma Hominis</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 2	<i>Trichomonas Vaginalis</i>	FAM
	<i>Mycoplasma Genitalium</i>	HEX
	<i>Ureaplasma Parvum</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 3	<i>Treponema Pallidum</i>	FAM
	<i>Candida albicans</i>	HEX
	<i>Ureaplasma Urealyticum</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 4	<i>Haemophilus Ducreyi</i>	FAM
	<i>Gardnerella Vaginalis</i>	HEX
	Вірус простого герпесу тип 2 (HSV2)	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 5	<i>Candida glabrata</i>	FAM
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	HEX
	Вірус простого герпесу тип 1 (HSV1)	ROX
	Internal control	Cy 5
STI PLUS MM 6	<i>Chlamydia Trachomatis serovars A-K</i>	FAM
	<i>Chlamydia Trachomatis serovars L1/L2/L3</i>	HEX
	<i>Candida tropicalis</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5

Прилади

Набір RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit можна використовувати із ампліфікаторами для ПЛР у реальному часі BIO-RAD CFX96, Tianlong Gentier 96, Applied Biosystems QuantStudio5, а також приладами ДНК-технології серії ДТ (DT-prime, DT-lite). Але RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit також може бути сумісним з більшістю ампліфікаторів для ПЛР у реальному часі з відповідними каналами.

Загальний опис

Інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), є основною причиною безпліддя, тривалої інвалідності, позаматкової вагітності та передчасних пологів. ІПСШ підвищують ризик розвитку раку статевих органів і є важким медичним, соціальним та економічним явищем для багатьох людей у всьому світі (1).

ІПСШ можуть бути викликані різними збудниками, серед яких бактерії, віруси, гриби та найпростіші. Затримка з постановкою діагнозу є одним із факторів, що ускладнює боротьбу з цими захворюваннями. 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 таких патогенів — це тестування (2).

Стратегії, спрямовані на розширення скринінгу та тестування на ІПСШ серед населення, можуть 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).

Використані джерела:

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. Retrieved from <https://www.cdc.gov/std/hiv/stdfact-std-hiv.htm>

Інформація щодо безпеки

- 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 засоби індивідуального захисту.
- На початку та в кінці роботи дезінфікуйте усі робочі поверхні знезаражувальними розчинами.
- Переконайтесь, що усі розхідні матеріали мають маркування DNase/RNase-free.
- Поводьтесь з усіма матеріалами відповідно до правил роботи в лабораторіях, 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 ДНК/РНК, 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 кожену 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 ДНК/РНК 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 негативних до патогенів осіб для імітації клінічних зразків. ДНК збудника очищали за допомогою набору RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit. 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 Pathogen PLUS Detection Kit був проведений для послідовностей кожного збудника, доступних у базах даних NCBI. Результати показують, що нуклеотидні ділянки, які розпізнаються розробленими праймерами та зондами, мають 100% гомологію з всіма доступними послідовностями патогенів з баз даних/банків даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI).

Перехресна реактивність:

Перехресна реактивність набору RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit була оцінена як за допомогою аналізу *in silico*, так і за допомогою тестування методом ПЛР. Аналіз *in silico* праймерів і зондів RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit проти

послідовностей 28 патогенів показав, що набір є специфічним до конкретних мішеней і не дає перехресної реакції з цими патогенами. Перераховані нижче 28 збудників були протестовані на перехресну реактивність методом ПЛР за допомогою набору RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit. Хибнопозитивних результатів не виявлено. Нижче наведені результати дослідження перехресної реактивності, як *in silico*, так і методом ПЛР.

Аналіз перехресної реактивності *in silico*

Організм	Результат
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Немає гомології
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Немає гомології
<i>Enterobacter cloacae</i>	Немає гомології
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Немає гомології
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Немає гомології
<i>Staphylococcus aureus</i>	Немає гомології
<i>Enterococcus faecalis</i>	Немає гомології
<i>Enterococcus faecium</i>	Немає гомології
<i>Bacillus subtilis</i>	Немає гомології
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Немає гомології
<i>Legionella pneumophila</i>	Немає гомології
<i>Streptococcus salivarius</i>	Немає гомології
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Немає гомології
<i>Bordetella pertussis</i>	Немає гомології
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Немає гомології
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	Немає гомології
<i>Enterococcus dispar</i>	Немає гомології
<i>Proteus spp.</i>	Немає гомології
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Немає гомології
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Немає гомології
<i>Aspergillus niger</i>	Немає гомології
<i>Salmonella spp.</i>	Немає гомології
<i>Serratia marcescens</i>	Немає гомології
Вірус парагрипу 1-4	Немає гомології
Вірус грипу А та В	Немає гомології
Респіраторно-синцитіальний вірус	Немає гомології
Аденовірус (напр. С1 Ad. 71)	Немає гомології
Метапневмовірус людини (hMPV)	Немає гомології

Аналіз перехресної реактивності методом ПЛР

Організм	Джерело	Концентрація	Результат
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Enterobacter cloacae</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Staphylococcus aureus</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Enterococcus faecalis</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Enterococcus faecium</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Legionella pneumophila</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Bordetella pertussis</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Enterococcus dispar</i>	Клінічний зразок	не призначена одиниця виміру	Не виявлено
<i>Aspergillus niger</i>	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/мл ⁸	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 імунodefіциту людини 1 (ВІЛ-1)	NIBSC (кат. №: 16/194)	1.25×10 МО/мл ⁵	Не виявлено
Вірус імунodefіциту людини 2 (ВІЛ-2)	NIBSC (кат. №: 16/296)	2.8×10 МО/мл ⁵	Не виявлено
Респіраторно-синцитіальний вірус людини А2	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 RevoDx STI-18 RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit 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 сліпом 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 набору RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria відповідно до інструкції. Потім проводили аналіз методом ПЛР за допомогою набору RevoDx STI Pathogen PLUS 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 RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit (Cat. №: IP202302; IdilBiotech, Туреччина) або RevoDx Magnetic Pathogen DNA/RNA Purification Kit (Cat. №: IP202303; IdilBiotech, Туреччина) або реагент DirEXT OneStep (Cat. №: IP202319; IdilBiotech, Туреччина)
- Ампліфікатор для ПЛР у режимі реального часу
- Відповідні засоби індивідуального захисту (халат, рукавички, окуляри)
- 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, урогенітальними мазками або мазками з шийки матки. Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; під час збору та обробки зразків необхідно дотримуватись запобіжних заходів.

Клініцисти (а також фельдшери, медсестри, лікарі та спеціалісти, пов'язані з 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 преаналітичному етапі, що також передбачає точне і повне документування.

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 ДНК. В ідеалі операції повинні проводитися в трьох окремих зонах (для виділення ДНК/РНК, приготування реагентів для ПЛР, ампліфікації), щоб запобігти контамінації.

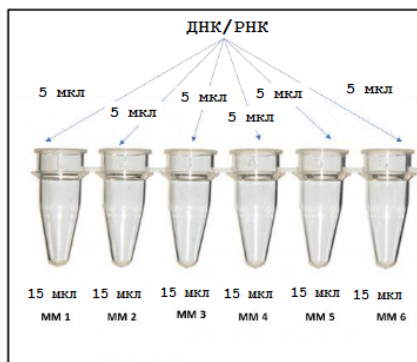
Внутрішній контроль: Внутрішній контроль (ВК), мішенню якого є РНКаз Р людини, потрібен для підтвердження потраплення виділеної ДНК у реакційні пробірки. Внутрішній контроль використовується для моніторингу ефективності етапу екстракції ДНК, а також для перевірки будь-якого інгібування ПЛР.

Позитивний контроль: Значення Ct позитивного контролю має дорівнювати 26 ± 4 , інші значення вказують на наявність проблем

Протокол ПЛР

1. Розморозьте всі компоненти при кімнатній температурі, крім STI PLUS Enzyme Mix. Покладіть суміш STI PLUS Enzyme Mix на лід. Ретельно перемішайте кожен компонент, потім осадіть краплі короточасним 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-18 MM та STI PLUS Enzyme Mix на загальну кількість зразків. При цьому враховуються досліджувані клінічні зразки та контрольні зразки. Для уникнення похибок при розкапуванні рекомендується враховувати додатковий зразок при підрахунку загальної кількості зразків.
3. Підготуйте шість пробірок 1,5 мл для кожної з реакційних сумішей STI PLUS MM 1-6. Для приготування кожної майстер-суміші додайте 14 мкл STI PLUS MM і 1 мкл STI PLUS Enzyme Mix для кожного зразка у підготовані пробірки. Після приготування майстер-міксів обережно перемішайте суміш піпетуванням або на вортексі та осадити краплі короточасним центрифугуванням. Внести по 15 мкл кожної приготованої суміші у пробірки/планшет для ПЛР. Для кожного клінічного зразка слід використовувати 6 лунок (з різними сумішами 1-6). Після внесення майстер-міксів у лунки додайте по 5 мкл екстрагованої ДНК у кожну лунку, як показано на

малюнку нижче. 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 1: Програма ампліфікації

Назва етапу	Кількість циклів	Програма
Активация полімерази	1	95°C, 2 хв
Ампліфікація	40	95°C, 10 сек
		60°C, 20 сек

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

- Обрати вимірювання рівня флуоресценції при 60°C за каналами FAM, HEX, ROX та Cy 5.
- Запустити програму.
- Програмування приладу та аналіз результатів здійснювати відповідно до інструкції виробника.

Аналіз даних

Значення C_t для позитивного контролю повинно дорівнювати 26 ± 4 , а негативний контроль у всіх каналах повинен бути негативним. В іншому випадку експеримент слід повторити.

Результати інтерпретувати наступним чином:

Сигнал по каналу FAM / HEX / ROX	Сигнал по каналу Cy 5 (внутрішній контроль)	Інтерпретація
+	+/-	Позитивний на специфічний збудник
-	+	Збудник не виявлено
-	-	Невалідний результат. Зразок слід повторно протестувати для цього майстер-міксу

Примітка: Залежно від приладу, набір може давати хибнопозитивні результати при значенні Ct вище 35 для визначених мішеней. Відповідно, результати із Ct вище 35 можуть бути проігноровані. Проте не рекомендується повністю відкидати такий результат; слід оцінювати його у поєднанні з клінічними симптомами пацієнта та іншими діагностичними даними. Консультація з клінічним мікробіологом також може надати цінну інформацію.

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

Пробірка	Цільовий організм	Канал детекції
STI PLUS MM 1	<i>Candida parapsilosis</i>	FAM
	<i>Neisseria Gonorrhoeae</i>	HEX
	<i>Mycoplasma Hominis</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 2	<i>Trichomonas Vaginalis</i>	FAM
	<i>Mycoplasma Genitalium</i>	HEX
	<i>Ureaplasma Parvum</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 3	<i>Treponema Pallidum</i>	FAM
	<i>Candida albicans</i>	HEX
	<i>Ureaplasma Urealyticum</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 4	<i>Haemophilus Ducreyi</i>	FAM
	<i>Gardnerella Vaginalis</i>	HEX
	Вірус простого герпесу тип 2 (HSV2)	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
STI PLUS MM 5	<i>Candida glabrata</i>	FAM
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	HEX
	Вірус простого герпесу тип 1 (HSV1)	ROX
	Internal control	Cy 5
STI PLUS MM 6	<i>Chlamydia Trachomatis serovars A-K</i>	FAM
	<i>Chlamydia Trachomatis serovars L1/L2/L3</i>	HEX
	<i>Candida tropicalis</i>	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5

Інформація для замовлення

Назва продукту	Фасування	Каталожний номер
RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit	24 тести	IP202504-24
RevoDx STI Pathogen PLUS Detection Kit	48 тестів	IP202504-48