



**Med·Bio·Agro**  
LABORATORIES

**RevoDx** Набір для виявлення  
ДНК/РНК 34 збудників  
респіраторних захворювань  
**RevoDx** Respiratory-34 Pathogen Detection  
Kit

**Інструкція з використання**

**Якісне виявлення ДНК/РНК збудників респіраторних захворювань**  
**Для діагностики *in vitro***  
**Тільки для професійного використання**

**Каталожні номери:**  
**IP202510-24 – 24 тести**  
**IP202510-48 – 48 тестів**



## Склад набору

|    | Компонент                                                  | 24 тести | 48 тести |
|----|------------------------------------------------------------|----------|----------|
| 1  | Буферна суміш 1 (Respiro34 MM 1)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 2  | Буферна суміш 2 (Respiro34 MM 2)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 3  | Буферна суміш 3 (Respiro34 MM 3)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 4  | Буферна суміш 4 (Respiro34 MM 4)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 5  | Буферна суміш 5 (Respiro34 MM 5)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 6  | Буферна суміш 6 (Respiro34 MM 6)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 7  | Буферна суміш 7 (Respiro34 MM 7)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 8  | Буферна суміш 8 (Respiro34 MM 8)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 9  | Буферна суміш 9 (Respiro34 MM 9)                           | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 10 | Буферна суміш 10 (Respiro34 MM 10)                         | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 11 | Буферна суміш 11 (Respiro34 MM 11)                         | 336 мкл  | 672 мкл  |
| 12 | Ферментна суміш (Respiro34 Enzyme Mix)                     | 264 мкл  | 528 мкл  |
| 13 | Позитивний контрольний зразок (Respiro34 Positive Control) | 200 мкл  | 400 мкл  |
| 14 | Негативний контрольний зразок (Respiro34 Negative Control) | 200 мкл  | 400 мкл  |

## Транспортування, зберігання та стабільність

Набори можна транспортувати при температурі від +2°C до +8°C. Усі компоненти RevoDx Respiratory-34 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. Реагенти Respiro34 MM не слід заморожувати-розморожувати більше 3 разів, оскільки це може призвести до зниження чутливості набору. За 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 Respiratory-34 Pathogen Detection Kit — це ПЛР-тест у режимі реального часу, призначений для якісного виявлення та ідентифікації нуклеїнових кислот специфічних бактеріальних і вірусних патогенів у мазках з носоглотки та ротоглотки, назофарингеального аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (BAL), зразках бронхіального аспірату (БАС), мокротиння та спинномозкової рідини (ліквору) від осіб із ознаками та/або симптомами респіраторної інфекції.

Позитивні результати не виключають коінфекції з іншими збудниками. Виявлений агент може не бути точною та єдиною причиною захворювання. Негативні результати не виключають інфекції та 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 Respiratory-34 Pathogen Detection Kit призначений для використання кваліфікованим персоналом клінічної лабораторії, спеціально проінструктованим і навченим методам ПЛР у реальному часі та процедурам діагностики *in vitro*.

Набір RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit виявляє наступні патогени:

| Віруси                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Грип А</li><li>• Грип А-Н1</li><li>• Грип А-Н1pdm09</li><li>• Грип А-Н3</li><li>• Грип В</li><li>• Респіраторно-синцитіальний вірус А&amp;В</li><li>• Риновірус/Ентеровірус</li><li>• Метаневмовірус</li><li>• Вірус парагрипу 1</li><li>• Вірус парагрипу 2</li><li>• Вірус парагрипу 3</li><li>• Вірус парагрипу 4</li><li>• Бокавірус 1/2/3/4</li><li>• Коронавірус 229Е</li><li>• Коронавірус NL63</li><li>• Коронавірус OC43</li><li>• Коронавірус HKU1</li><li>• Аденовірус</li><li>• Коронавірус SARS-CoV-2</li></ul> |
| Бактерії                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Bordetella pertussis</i></li> <li>• <i>Chlamydomphila pneumoniae</i></li> <li>• <i>Legionella pneumophila</i></li> <li>• <i>Mycoplasma pneumoniae</i></li> <li>• <i>Streptococcus pneumoniae</i></li> <li>• <i>Streptococcus pyogenes</i></li> <li>• <i>Haemophilus influenzae</i></li> <li>• <i>Moraxella catarrhalis</i></li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>• <i>Streptococcus agalactiae</i></li> <li>• <i>Klebsiella pneumoniae</i></li> <li>• <i>Acinetobacter baumannii</i></li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul> |
| <b>Гриби</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pneumocystis jirovecii</i></li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

### Обмеження щодо використання продукту

- Використовувати тільки за призначенням
- Набір призначений для діагностики in vitro
- Потенційні мутації в цільових областях геномів патогенів, залучених у реакції, можуть призвести до хибнонегативних результатів тесту.
- Цей набір валідовано для використання з мазками з носоглотки та ротоглотки, назофарингеальним аспіратом/лаважом, бронхоальвеолярним лаважом (BAL), бронхіальним аспіратом (BAS), мокротинням і спинномозковою рідиною (CSF). Тестування з іншими типами зразків може призвести до хибних результатів.
- Інгібітори ПЛР в елюатах можуть призвести до хибно негативних 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

RevoDx Respiratory-24 Pathogen 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/РНК респіраторних збудників здійснюється за допомогою 11 різних реакцій, в яких одночасно виявляється РНК аза Р людини в якості внутрішнього контролю, який використовується для перевірки якості виділення та ампліфікації.

У наведеній нижче таблиці підсумовано цільові патогени у 11 різних реакційних пробірках:

| Пробірка       | Цільовий організм                    | Канал детекції |
|----------------|--------------------------------------|----------------|
| Respiro34 MM 1 | Вірус грипу А                        | FAM            |
|                | Вірус грипу В                        | HEX            |
|                | Респіраторно-синцитіальний вірус А+В | ROX            |
|                | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 2 | Риновірус/Ентеровірус                | FAM            |
|                | <i>Legionella pneumophila</i>        | HEX            |
|                | Бокавірус 1/2/3/4                    | ROX            |
|                | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 3 | <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>     | FAM            |
|                | Вірус парогрипу 3                    | HEX            |
|                | <i>Streptococcus pneumoniae</i>      | ROX            |
|                | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
|                | Грип А-Н1pdm09                       | FAM            |

|                 |                          |      |
|-----------------|--------------------------|------|
| Respiro34 MM 4  | Коронавірус SARS-CoV-2   | HEX  |
|                 | Вірус парагрипу 2        | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 5  | Грип А-Н3                | FAM  |
|                 | Метапневмовірус          | HEX  |
|                 | Mycoplasma pneumoniae    | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 6  | Грип А-Н1                | FAM  |
|                 | Коронавірус OC43         | HEX  |
|                 | Bordetella pertussis     | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 7  | Коронавірус NL63         | FAM  |
|                 | Коронавірус HKU1         | HEX  |
|                 | Вірус парагрипу 4        | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 8  | Аденовірус               | FAM  |
|                 | Коронавірус 229E         | HEX  |
|                 | Вірус парагрипу 1        | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 9  | Pneumocystis jirovecii   | FAM  |
|                 | Haemophilus influenzae   | HEX  |
|                 | Streptococcus pyogenes   | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 10 | Pseudomonas aeruginosa   | FAM  |
|                 | Streptococcus agalactiae | HEX  |
|                 | Klebsiella pneumoniae    | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |
| Respiro34 MM 11 | Moraxella catarrhalis    | FAM  |
|                 | Acinetobacter baumannii  | HEX  |
|                 | Staphylococcus aureus    | ROX  |
|                 | Внутрішній контроль      | Cy 5 |

## Прилади

RevoDx Respiratory-34 Pathogen 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 Respiratory-34 Pathogen Detection Kit також може бути сумісним з більшістю ампліфікаторів для ПЛР у реальному часі з каналами FAM, HEX, ROX і Cy5.

## Загальний опис

Молекулярна діагностика інфекцій дихальних шляхів - це новаторський напрям медицини, метою якого є виявлення патогенів та допомога в лікуванні відповідних захворювань. За допомогою передових технологій вчені можуть точно ідентифікувати конкретні патогени, що викликають респіраторні інфекції. Відповідно, медичні працівники можуть приймати більш обґрунтовані рішення щодо призначення лікування для пацієнтів. Минули ті часи, коли лікарі поклалися лише на симптоми та фізичні обстеження для діагностики інфекцій дихальних шляхів. Завдяки молекулярній діагностиці вони можуть виявляти та аналізувати безпосередньо генетичний матеріал вірусів або бактерій, що присутні у зразках пацієнта (мокротиння, мазки з носа або горла). Виявлення унікальних послідовностей ДНК/РНК патогенів дозволяє медичним представникам точно визначити причину захворювання і відповідно, проводити цілеспрямоване лікування та отримувати кращі результати. Цей інноваційний підхід має численні переваги над традиційними методами. По-перше, цей метод не лише забезпечує швидші та точніші результати, але й дозволяє ідентифікувати патогени, які раніше неможливо було виявити. До того ж, він дозволяє виявляти кілька збудників одночасно, що особливо корисно у випадках, коли підозрюється наявність коінфекцій. Ця інформація є життєво важливою для визначення найбільш ефективного курсу лікування.

Молекулярна діагностика інфекцій дихальних шляхів також має значення у зменшенні кількості непотрібних призначень антибіотиків. Надмірне та неправильне використання антибіотиків призвело до появи стійких до них бактерій, що становлять значну загрозу для здоров'я людей у всьому світі. Точне визначення патогенів, що викликають інфекцію, дозволяє уникнути призначення антибіотиків, коли вони не потрібні і таким чином запобігти розвитку антибіотикорезистентності.

Крім того, молекулярна діагностика є перспективною для розвитку персоналізованої медицини. Дослідження геному людини дозволяє дослідникам визначати генетичні варіації, які впливають на чутливість до певних захворювань, в тому числі інфекцій дихальних шляхів. Молекулярна діагностика дозволяє виявляти людей, які можуть бути в групі підвищеного ризику через генетичні особливості, що дає можливість вчасно вжити індивідуальні профілактичні заходи.

Отже, молекулярна діагностика інфекцій дихальних шляхів є революційною в медицині. Використання можливостей генетики та передових технологій дозволяє встановлювати більш точні діагнози, проводити цілеспрямоване лікування та

покращувати результати перебігу хвороби. Це все не тільки дозволяє поглибити розуміння інфекційних захворювань, але й запобігати розвитку до протимікробних препаратів. Оскільки ця галузь продовжує розвиватися, то вона має величезний потенціал для трансформації методів діагностики та лікування інфекцій дихальних шляхів, що наприкінці покращить здоров'я і добробут людей в усьому світі.

## 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 вкінці 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 кожную 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 копій/мл шляхом розведення зразків збудників клінічними зразками, відібраними у негативних осіб, для імітації клінічних зразків. ДНК патогенів очищали за допомогою набору RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit (Cat. No: IP202302; idil biotech, Туреччина). Кожне розведення тестували в 24 повтореннях. Значення межі виявлення (LoD) розраховували за допомогою пробіт-аналізу. Межа виявлення (LoD) для вірусів становила 150 копій/мл, а для бактерій та грибів – 180 КУО/мл. Ці значення LoD були підтверджені тестуванням додаткових 20 повторів з розведенням 150 копій/мл для вірусів та 180 КУО/мл для бактерій. Всі 20 повторів дали позитивні результати для кожної мішені, і, таким чином, було підтверджено, що LoD становить 150 копій/мл для вірусів та 170 КУО/мл для бактерій та грибів.

### Інклюзивність:

Аналіз інклюзивності *in silico* праймерів та зондів RevoDx Respiratory-34 Pathogen 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 для виявлення збудників респіраторних хвороб RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit була оцінена як за допомогою аналізу *in silico*, так і за допомогою тестування методом ПЛР. Аналіз *in silico* праймерів і зондів RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit проти послідовностей 24 патогенів показав, що набір є специфічним до конкретних мішеней і не дає перехресної реакції з цими патогенами. Перераховані нижче 31 збудник були протестовані на перехресну реактивність методом ПЛР за допомогою набору RevoDx Respiratory-34 Pathogen 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>Bacillus subtilis</i>            | Немає гомолої |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>   | Немає гомолої |
| <i>Streptococcus salivarius</i>     | Немає гомолої |
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP) | Немає гомолої |
| <i>Entamoeba dispar</i>             | Немає гомолої |
| <i>Proteus spp.</i>                 | Немає гомолої |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>     | Немає гомолої |

|                                             |               |
|---------------------------------------------|---------------|
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i>            | Немає гомолої |
| <i>Aspergillus niger</i>                    | Немає гомолої |
| <i>Salmonella spp.</i>                      | Немає гомолої |
| <i>Serratia marcescens</i>                  | Немає гомолої |
| JC-поліомавірус                             | Немає гомолої |
| BK-поліомавірус                             | Немає гомолої |
| Парвовірус В19                              | Немає гомолої |
| Норовірус людини                            | Немає гомолої |
| Вірус Варієлла Зостер (VZV)                 | Немає гомолої |
| Вірус імунodefіциту людини 1 (ВІЛ-1, HIV-1) | Немає гомолої |
| Вірус імунodefіциту людини 2 (ВІЛ-2, HIV-2) | Немає гомолої |
| Вірус гепатиту С (ВГС, HCV)                 | Немає гомолої |
| Вірус гепатиту В (ВГВ, HBV)                 | Немає гомолої |
| Вірус Ебола                                 | Немає гомолої |
| Цитомегаловірус (ЦМВ, CMV)                  | Немає гомолої |
| Вірус Епштейна-Барр (ЕБВ, EBV)              | Немає гомолої |
| Пареховірус людини                          | Немає гомолої |

#### Аналіз перехресної реактивності методом ПЛР

| Організм                                                                    | Джерело                 | Концентрація                 | Результат   |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------|
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)                                         | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Entamoeba dispar</i>                                                     | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>                                           | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Aspergillus niger</i>                                                    | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус кору                                                                  | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Candida albicans</i>                                                     | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Cryptococcus neoformans</i>                                              | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Escherichia coli</i>                                                     | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Neisseria meningitidis</i>                                               | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Legionella feeleii</i>                                                   | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                                | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Chlamydia trachomatis</i>                                                | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Mycoplasma hominis</i>                                                   | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>                                                | Клінічний зразок        | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус імунodefіциту людини 1 (ВІЛ-1)                                        | NIBSC (Cat. No: 16/194) | 1.25×10 <sup>5</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Вірус імунodefіциту людини 2 (ВІЛ-2)                                        | NIBSC (Cat. No: 16/296) | 2.8×10 <sup>5</sup> МО/мл    | Не виявлено |
| Вірус гепатиту В (4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT)       | NIBSC (Cat. No: 10/266) | 9.55×10 <sup>5</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Вірус гепатиту С (6th WHO International Standard for Hepatitis C virus RNA) | NIBSC (Cat. No: 18/184) | 2.57×10 <sup>5</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Цитомегаловірус (CMV) (1st International Standard)                          | NIBSC (Cat. No: 09/162) | 5×10 <sup>6</sup> МО/мл      | Не виявлено |
| Вірус Епштейна-Барр (1st International Standard)                            | NIBSC (Cat. No: 09/260) | 5×10 <sup>6</sup> МО/мл      | Не виявлено |
| Вірус Варієлла Зостер VZV (1st WHO International Standard)                  | NIBSC (Cat. No: 19/164) | 1×10 <sup>7</sup> МО/мл      | Не виявлено |
| EBOV RNA NP-VP35-GP (WHO Reference Reagent)                                 | NIBSC (Cat. No: 15/222) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Парвовірус В19 (1st International Standard)                                 | NIBSC (Cat. No: 09/110) | 9.55×10 <sup>5</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Вірус простого герпесу 1 типу (HSV-1)                                       | NIBSC (Cat. No: 16/368) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Вірус простого герпесу 2 типу (HSV-2)                                       | NIBSC (Cat. No: 17/122) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| JC-поліомавірус (JCV) (1st International Standard)                          | NIBSC (Cat. No: 14/114) | 1.55×10 <sup>7</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| BK-поліомавірус (BKV)(1st International Standard)                           | NIBSC (Cat. No: 14/122) | 2.04×10 <sup>7</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Вірус герпесу 6 типу (HHV-6 Virus 1st WHO International Standard)           | NIBSC (Cat. No: 15/266) | 5.63×10 <sup>7</sup> МО/мл   | Не виявлено |
| Пареховірус людини                                                          | NIBSC (Cat. No: 08/322) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| Норовірус людини                                                            | NIBSC (Cat. No: 08/318) | не призначена одиниця виміру | Не виявлено |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (1st WHO International Standard)          | NIBSC (Cat. No: 20/152) | 2×10 <sup>6</sup> МО/мл      | Не виявлено |



### Порівняльні клінічні випробування:

Ефективність роботи набору для виявлення збудників респіраторних хвороб RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit оцінювали за допомогою архівних клінічних зразків. 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 набору RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit відповідно до інструкції. Потім проводили аналіз методом ПЛР за допомогою набору RevoDx Respiratory-34 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 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

Цей набір валідовано для використання з мазками з носоглотки та ротоглотки, назофарингеальним аспіратом/лаважом, бронхоальвеолярним лаважом (BAL), бронхіальним аспіратом (BAS), мокротинням і спинномозковою рідиною (CSF). 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 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 включає точне і повне документування.

Зразки можна зберігати при 2-8 °C протягом 72 годин після збору. Якщо очікується затримка екстракції, зразки слід зберігати при -15 °C або нижче. Екстраговану нуклеїнову кислоту слід зберігати при -15 °C або нижче. Транспортування зразків має відповідати державним або місцевим нормам.

### Протокол

**Виділення ДНК:** Для виділення ДНК збудника із зразків мазків з носоглотки та ротоглотки, назофарингеального аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (BAL), бронхіального аспірату (BAS), мокротиння та спинномозкової рідини (ліквору), 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 проводитись в трьох окремих зонах (для виділення ДНК/РНК, приготування реагентів для ПЛР, ампліфікації), щоб запобігти контамінації.

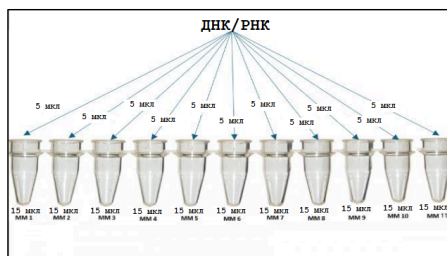
**Внутрішній контроль:** Внутрішній контроль (ВК), мішенню якого є РНКаз Р людини, потрібен для підтвердження потрапляння виділеної ДНК у реакційні пробірки. Внутрішній контроль використовується для моніторингу ефективності етапу екстракції ДНК, а також для перевірки будь-якого інгібування ПЛР.

**Позитивний контроль:** Значення Ct позитивного контролю має дорівнювати  $26 \pm 4$ , інші значення вказують на наявність проблем..

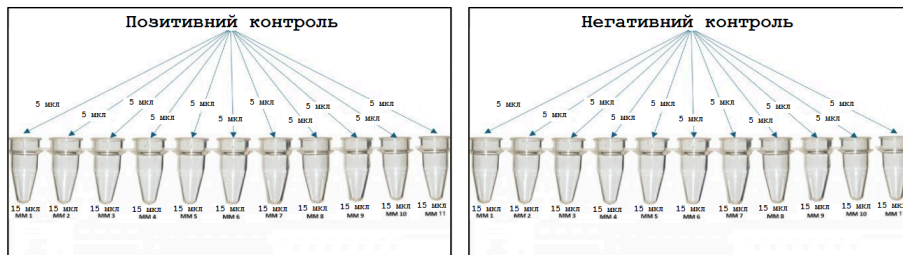
### Протокол ПЛР

1. Розморозьте всі компоненти при кімнатній температурі, крім Respiro34 Enzyme Mix. Покладіть суміш ферментів Respiro34 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 Respiro34 MM та Respiro34 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 11 пробірок 1,5 мл для кожної з реакційних сумішей Respiro34 MM 1-8. Для приготування кожної майстер-суміші додайте 14 мкл Respiro34 MM і 1 мкл Respiro34 Enzyme Mix для кожного зразка у підготовлені пробірки. Після приготування майстер-міксів обережно перемішати 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 11 лунок (з різними сумішами 1-11). 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 | Температура | Час    |
|----------------------|------------------|-------------|--------|
| Синтез кДНК          | 1                | 50°C        | 15 хв  |
| 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 Cy5

- Обрати вимірювання рівня флуоресценції при 60°C за каналами FAM, HEX, ROX та Cy5.
- Запустити програму.
- Програмування приладу та аналіз результатів здійснювати відповідно до інструкції виробника.

## Аналіз даних

Значення Ct для позитивного контролю повинно дорівнювати 26±4, а негативний контроль по 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 РНКазы Р) | 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 детекції для відповідного цільового організму/цільового гена:

| Пробірка        | Цільовий організм                    | Канал детекції |
|-----------------|--------------------------------------|----------------|
| Respiro34 MM 1  | Вірус грипу А                        | FAM            |
|                 | Вірус грипу В                        | HEX            |
|                 | Респіраторно-синцитіальний вірус А+В | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 2  | Риновірус/Ентеровірус                | FAM            |
|                 | Legionella pneumophila               | HEX            |
|                 | Бокавірус 1/2/3/4                    | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 3  | Chlamydia pneumoniae                 | FAM            |
|                 | Вірус парогрипу 3                    | HEX            |
|                 | Streptococcus pneumoniae             | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 4  | Грип А-Н1pdm09                       | FAM            |
|                 | Коронавірус SARS-CoV-2               | HEX            |
|                 | Вірус парогрипу 2                    | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 5  | Грип А-Н3                            | FAM            |
|                 | Метапневмовірус                      | HEX            |
|                 | Mycoplasma pneumoniae                | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 6  | Грип А-Н1                            | FAM            |
|                 | Коронавірус OC43                     | HEX            |
|                 | Bordetella pertussis                 | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 7  | Коронавірус NL63                     | FAM            |
|                 | Коронавірус HKU1                     | HEX            |
|                 | Вірус парогрипу 4                    | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 8  | Аденовірус                           | FAM            |
|                 | Коронавірус 229E                     | HEX            |
|                 | Вірус парогрипу 1                    | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 9  | Pneumocystis jirovecii               | FAM            |
|                 | Haemophilus influenzae               | HEX            |
|                 | Streptococcus pyogenes               | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 10 | Pseudomonas aeruginosa               | FAM            |
|                 | Streptococcus agalactiae             | HEX            |
|                 | Klebsiella pneumoniae                | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |
| Respiro34 MM 11 | Moraxella catarrhalis                | FAM            |
|                 | Acinetobacter baumannii              | HEX            |
|                 | Staphylococcus aureus                | ROX            |
|                 | Внутрішній контроль                  | Cy 5           |

## Інформація для замовлення

| Продукт                                      | Фасування: | Кат. No.    |
|----------------------------------------------|------------|-------------|
| RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit | 24 тести   | IP202510-24 |
| RevoDx Respiratory-34 Pathogen Detection Kit | 48 тестів  | IP202510-48 |