



Med·Bio·Agro
LABORATORIES

RevoDx Набір для
виявлення ДНК/РНК 5
збудників респіраторних
захворювань методом
ПЛР

RevoDx Respiratory-5 Pathogen
Detection Kit

Інструкція з використання

**Якісне виявлення ДНК/РНК збудників респіраторних
захворювань**

Для використання у діагностиці *in vitro*

Тільки для професійного використання

Каталожні номери:

IP202519-50 – 50 тестів

IP202519-100 – 100 тестів

Склад набору

	Назва компоненту	50 Тестів	100 Тестів
1	Respiro5 MM 1	700 µl	1400 µl
2	Respiro5 MM 2	700 µl	1400 µl
4	Ензимна суміш Respiro5 (Respiro5 Enzyme Mix)	100 µl	200 µl
5	Позитивний контрольний зразок Respiro5 (Respiro5 Positive Control)	100 µl	100 µl
6	Негативний контрольний зразок Respiro5 (Respiro5 Negative Control)	100 µl	100 µl

Транспортування, зберігання та стабільність

Набори можна транспортувати при температурі від +2°C до +8°C. Усі компоненти набору RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit слід зберігати при температурі від -25°C до -15°C. Слід уникати зберігання при вищих температурах. За умови належного зберігання всі компоненти набору залишаються стабільні до закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці продукту. Реагенти Respiro5 MM не можна заморожувати-розморожувати більше 3 разів, це може призвести до зниження чутливості. При необхідності збільшення кількості циклів заморожування-розморожування, розділіть реагенти на кілька аліквот зручного об'єму та зберігайте при температурі від -25°C до -15°C.

Передбачене використання

RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit - це ПЛР-тест у режимі реального часу, призначений для якісного виявлення та ідентифікації нуклеїнових кислот бактеріальних та вірусних патогенів у мазках з носоглотки, ротоглотки, носоглоткового аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), бронхіального аспірату (БАС), мокротиння та спинномозкової рідини (СМР), отриманих від осіб з ознаками та/або симптомами респіраторної інфекції.

Позитивні результати не виключають коінфікування іншими патогенами. Виявлений збудник може не бути провідною причиною захворювання. Негативні результати не виключають інфікування 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.

RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit призначений для використання кваліфікованим і підготовленим персоналом клінічної лабораторії, спеціально проінструкованим і навченим методам ПЛР у реальному часі та діагностики in vitro.

Набір RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit виявляє наступні патогени:

Віруси

- Вірус грипу А
- Вірус грипу В
- Респіраторно-синцитіальний вірус А і В
- SARS-CoV-2
- Аденовірус

Обмеження щодо використання продукту

- Використовувати лише за призначенням
- Набір призначений лише для діагностики in vitro.
- Потенційні мутації в цільових областях геномів патогенів, залучених у реакції, можуть призвести до хибнонегативних результатів тесту.
- Інгібітори ПЛР в елюатах можуть призвести до хибнонегативних або невалідних результатів тесту.
- Цей набір валідований для використання з мазками з носоглотки, ротоглотки, носоглоткового аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), бронхіального аспірату (БАС), зразками мокротиння та спинномозкової рідини (СМР) людини. Тестування з іншими типами зразків може призвести до неточних результатів.
- Для отримання достовірних результатів необхідно дотримуватись правильних методів відбору, 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 Pathogen Detection Real-Time PCR assay - це набір для ПЛР-аналізу, що передбачає використання флуорогенного зонду, який гібридується з послідовністю між двома праймерами. Такий зонд містить флуоресцентну мітку на 5'-кінці та молекулу гасника на 3'-кінці, яка пригнічує флуоресцентний репортер. Під час

реплікації ДНК у ході ПЛР, мічений флуоресцентним барвником зонд гібридується з ДНК-матрицею, а потім руйнується через 5'-3' ендонуклеазну активність ДНК-полімерази *Thermus aquaticus* (Taq) в міру подовження праймера ПЛР. Зонд розщеплюється лише тоді, коли відбувається реплікація ДНК, при цьому 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. У наборі RevoDx Respiratory Pathogen Detection Real-Time PCR assay використовується внутрішній контроль для перевірки якості екстракції нуклеїнових кислот та проходження ампліфікації.

Аналіз виконується безпосередньо на ДНК/РНК, виділених із зразків пацієнта. Виявлення ДНК/РНК респіраторних збудників здійснюється за допомогою 2 різних реакцій, в яких одночасно виявляється РНКаз Р людини. В цьому наборі використовується РНКаз Р людини в якості внутрішнього контролю, що дозволяє перевірити виділення та ампліфікацію мішені.

У наступній таблиці наведено перелік патогенів-мішеней у 2 різних реакційних пробірках:

Пробірка#	Цільовий організм	Канал детекції
Respiro5 MM 1	Вірус грипу А	FAM
	Вірус грипу В	HEX
	Респіраторно-синцитіальний вірус А+В	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
Respiro5 MM 2	Аденовірус	FAM
	SARS-CoV-2	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5

Прилади

Набір RevoDx Respiratory-5 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 набір 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 покладалися 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 дослідниками визначити 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 запобігти 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.
- Ніколи не піпетуйте розчини за допомогою рота.
- В лабораторній зоні не можна вживати їжу, напої та палити.
- Необхідно мити руки після контакту зі зрізками та реагентами.
- Інформацію стосовно хімічного складу та безпечності реагентів тощо (MSDS information) можна отримати від виробника чи його представника за запитом.
- При роботі у лабораторії необхідно користуватись засобами 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 калібровані дозатори та завжди змінюйте наконечники під час роботи з різними рідинами (бажано використовувати наконечники з аерозольним фільтром).
- Зберігайте набір якомога далі від джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо продуктів ампліфікації.
- Усі маніпуляції варто проводити в окремих зонах (екстракція нуклеїнових кислот, приготування реакційних сумішей, ампліфікація) для уникнення контамінації.
- Усе обладнання та витратні матеріали для конкретної операції повинні знаходитися в зоні, де виконується ця операція, і не повинні переміщатися між різними зонами. Рухавчики 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 ДНК/РНК і закінчуючи відповідними зонами використання.

Характеристики набору

Аналітична чутливість

Для визначення межі виявлення (LoD) для кожного патогена було підготовлено серію розведень до кінцевих концентрацій 2430, 810, 270, 90 та 30 копій/мл шляхом внесення відповідного матеріалу у респіраторні зразки, отримані від негативних донорів, з метою моделювання клінічних зразків. Виділення вірусної РНК проводили за допомогою Viral RNA Purification Kit. Кожне розведення досліджували у 24 повторях. Значення межі виявлення (LoD) розраховували методом пробіт-аналізу. За результатами дослідження межа виявлення (LoD) становила 130 копій/мл. Отримане значення було додатково підтверджене шляхом тестування ще 20 повторів зразків, до яких було внесено матеріал у концентрації 130 копій/мл. Усі 20 повторів дали позитивний результат для кожної цілі, тому значення LoD = 130 копій/мл було підтверджено.

Інклюзивність

Аналіз інклюзивності *in silico* праймерів та зондів набору RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit було проведено для послідовностей кожного патогену у базах даних NCBI. Результати показують, що нуклеотидні ділянки, які розпізнаються розробленими праймерами та зондами, мають 100% гомологію з всіма доступними послідовностями патогенів з Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI).

Перехресна реактивність

Перехресна реактивність набору RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit була перевірена *in silico* та шляхом постановки ПЛР. Аналіз *in silico* праймерів і зондів RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit проти послідовностей 24 патогенів показав, що набір буде специфічним до цільових генів і не буде перехресно реагувати з цими патогенами. 31 патоген, перерахований нижче, був протестований на перехресну реактивність методом ПЛР за допомогою RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit. Хибнопозитивних результатів не спостерігалось. Нижче наведені результати перехресної реактивності, як у *in silico*, так і методом ПЛР.

Аналіз перехресної реактивності *in silico*

Організм	Результат
<i>Bacillus subtilis</i>	Немає гомології
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Немає гомології
<i>Streptococcus salivarius</i>	Немає гомології
<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	Немає гомології
<i>Entamoeba 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
JC вірус	Немає гомології

БК вірусу	Немає гомології
Парвовірус В19	Немає гомології
Норовірус людини	Немає гомології
Вірус вітряної віспи (VZV)	Немає гомології
Вірус імунodefіциту людини 1	Немає гомології
Вірус імунodefіциту людини 2	Немає гомології
Вірус гепатиту С	Немає гомології
Вірус гепатиту В	Немає гомології
Вірус Ебола	Немає гомології
Цитомегаловірус людини	Немає гомології
Вірус Епштейна-Барр	Немає гомології
Пареховірус людини	Немає гомології

Аналіз перехресної реактивності методом ПЛР

Організм	Джерело	Концентрація	Результат
<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Entamoeba dispar</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Aspergillus niger</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Measles Virus</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Candida albicans</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Escherichia coli</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Neisseria meningitidis</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Legionella feeleii</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Mycoplasma hominis</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Клінічний зразок	Не заявлено	Не виявлено
Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1)	NIBSC (Cat. No: 16/194)	1.25×10 ⁵ IU/ml	Не виявлено
Human Immunodeficiency Virus 2 (HIV-2)	NIBSC (Cat. No: 16/296)	2.8×10 ⁵ IU/ml	Не виявлено
4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT	NIBSC (Cat. No: 10/266)	9.55×10 ⁵ IU/ml	Не виявлено
Hepatitis C virus RNA (6th WHO International Standard)	NIBSC (Cat. No: 18/184)	2.57×10 ⁵ IU/ml	Не виявлено
Human Cytomegalovirus (HCMV) (1st International Standard)	NIBSC (Cat. No: 09/162)	5×10 ⁶ IU/ml	Не виявлено
Epstein-Barr Virus (1st International Standard)	NIBSC (Cat. No: 09/260)	5×10 ⁶ IU/ml	Не виявлено
VZV (1st WHO International Standard)	NIBSC (Cat. No: 19/164)	1×10 ⁷ IU/ml	Не виявлено
EBOV RNA NP-VP35-GP (WHO Reference Reagent)	NIBSC (Cat. No: 15/222)	Не заявлено	Не виявлено
Parvovirus B19 (1st International Standard)	NIBSC (Cat. No: 09/110)	9.55×10 ⁵ IU/ml	Не виявлено
HSV-1	NIBSC (Cat. No: 16/368)	Не заявлено	Не виявлено
HSV-2	NIBSC (Cat. No: 17/122)	Не заявлено	Не виявлено
JC Virus (JCV) DNA (1st International Standard)	NIBSC (Cat. No: 14/114)	1.55×10 ⁷ IU/ml	Не виявлено
BK Virus (BKV)(1st International Standard)	NIBSC (Cat. No: 14/122)	2.04×10 ⁷ IU/ml	Не виявлено
HHV-6 Virus 1st WHO International Standard	NIBSC (Cat. No: 15/266)	5.63×10 ⁷ IU/ml	Не виявлено
Human Parechovirus	NIBSC (Cat. No: 08/322)	Не заявлено	Не виявлено
Human Norovirus	NIBSC (Cat. No: 08/318)	Не заявлено	Не виявлено
First WHO International Standard for Mycobacterium tuberculosis	NIBSC (Cat. No: 20/152)	2×10 ⁶ IU/ml	Не виявлено

Примітка: назви подані згідно каталогу виробника

Клінічна оцінка

Ефективність набору RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit оцінювали за допомогою архівних респіраторних зразків. Для кожного збудника було протестовано загалом 20 позитивних і 20 негативних зразків у рандомізованому сліпому режимі. Всі зразки були отримані з лабораторії державної лікарні і попередньо протестовані за допомогою валідованого аналізу. Зразки екстрагували за допомогою RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit відповідно до інструкції до продукту. Потім проводили ПЛР-аналіз за допомогою набору RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit

відповідно до інструкції з експлуатації. Для ампліфікації, детектування та аналізу використовували BIO-RAD CFX96 в режимі реального часу.

Отримали 100% збіг з очікуваними результатами.

Додаткові матеріали та обладнання

- RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit (Кат. No: IP202302; idil biotech, Туреччина) або RevoDx Magnetic Pathogen DNA/RNA Purification Kit (Кат. No: IP202303; idil biotech, Туреччина) або DirEXT OneStep Pathogen DNA/RNA Extraction Reagent (Кат. No: IP202319; idil biotech, 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
- Бокс біологічного захисту
- Пробірки або планшети для ПЛР у реальному часі

Підготовка зразків

Цей набір валідований для використання з мазками з носоглотки, ротоглотки, носоглоткового аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), бронхіального аспірату (БАС), зразками мокротиння та спинномозкової рідини (СМР) людини. Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; і дотримуватись запобіжних заходів під час забору зразків і обробки.

Клініцисти (включаючи фельдшерів, медсестер, лікарів та спеціалістів, пов'язаних із медициною) несуть відповідальність за використання правильної процедури під час забору 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.

Зразки можна зберігати при 2-8°C протягом 72 годин після забору. Якщо очікується затримка екстракції, зберігайте зразки при -15°C або нижче. Екстраговані нуклеїнові кислоти мають зберігатись за температури -15°C або нижче. Транспортування зразків має відбуватись відповідно до місцевого законодавства.

Протокол

Екстракція ДНК/РНК Для екстракції ДНК/РНК бажано використовувати RevoDx Pathogen DNA/RNA Purification Kit або RevoDx Magnetic Pathogen DNA/RNA Purification Kit або DirEXT OneStep Pathogen DNA/RNA Extraction Reagent. при цьому виділення відбувається для зразків з носоглотки людини, ротоглотки, носоглоткового аспірату/лаважу, бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), бронхіального аспірату (БАС), зразків мокротиння та спинномозкової рідини (СМР). Будь ласка, дотримуйтеся інструкцій виробника обраного набору для виділення ДНК/РНК. 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 (Hs_RPP30), 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 ± 4 , інші значення вказують на наявність проблем.

Протокол ПЛР

1. Розморозьте всі компоненти при кімнатній температурі, крім Respiro5 Enzyme Mix. Покладіть Respiro5 Enzyme Mix на лід. Ретельно перемішайте кожен компонент, потім осадить 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 RM-1 and RM-2 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 2 пробірки 1,5 чи 2 мл для кожної з реакційних сумішей Respiro5 MM 1. Для приготування кожної майстер-суміші додайте 14 мкл Respiro5 MM 1 та 1 мкл Respiro5 Enzyme Mix для кожного зразка у підготовлені пробірки. Після приготування майстер-міксів обережно перемішати суміші піпетуванням або на вортексі та осадити краплі короткочасним центрифугуванням. Внести по 15 мкл приготованих сумішей у пробірки/планшет для ПЛР. Для кожного клінічного зразка слід використовувати 2 лунки (з різними сумішами 1-2). Після внесення майстер-міксу у лунки додайте по 5 мкл екстрагованої РНК. Внести по 5 мкл позитивного контрольного зразку та негативного контрольного зразку у відповідні пробірки. Закрити кришки чи заклеїти планшет та осадити краплі центрифугуванням.



4. Повторити крок 3 для кожного клінічного зразка, негативного та позитивного контролю



5. Запрограмуйте прилад для ампліфікації згідно з протоколом: 50°C 15 хв; 95°C 2 хв, 1 цикл; 95°C 10 сек, 60°C 20 сек, 40 циклів (Таблиця 1). Вказати об'єм зразка 20 мкл.

Таблиця 1: Програма ампліфікації

Назва етапу	Кількість циклів	Програма
Синтез кДНК	1	50°C, 15 хв
Активация полімерази ("гарячий" старт)	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

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

Аналіз даних

Значення Ct позитивного контролю має дорівнювати 26±4, а негативний контроль у всіх каналах має бути негативним. В іншому випадку експеримент слід повторити.

Результати слід інтерпретувати наступним чином для кожної майстер-суміші:

Сигнал по каналу FAM / HEX / ROX	Сигнал по каналу Cy 5 (ген РНКазы Р)	Інтерпретація
+	+/-	Зразок позитивний на відповідний патоген.
-	+	Патоген не виявлено.
-	-	Невалідний результат. Зразок слід повторно протестувати для цього майстер-міксу

Результати для кожного майстер-міксу інтерпретувати наступним чином:

Пробірка#	Цільовий організм	Канал детекції
Respiro5 MM 1	Вірус грипу А	FAM
	Вірус грипу В	HEX
	Респіраторно-синцитіальний вірус А+В	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5
Respiro5 MM 2	Аденовірус	FAM
	SARS-CoV-2	ROX
	Внутрішній контроль	Cy 5

Інформація про замовлення

Назва продукту	Фасування	Кат. No.
RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit	50 тестів	IP202519-50
RevoDx Respiratory-5 Pathogen Detection Kit	100 тестів	IP202519-100