



ПАМЯТКА ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ С НАБОРАМИ

ФОРМАТА ФЛУОРОПОЛ-КТ. Комплектация Two Step.

1. достать набор из холодильника, подготовить и пронумеровать необходимое количество пробирок с реакционной смесью, включая пробирки для положительного контрольного образца ДНК, отрицательного контрольного образца и фоновые пробирки (рекомендуемое количество фоновых пробирок – две, для теста на каждую инфекцию необходимо использовать свои фоновые пробирки).

2. Добавить во все пробирки по 2 капли минерального масла.

3. Добавить в **фоновые пробирки** индивидуальными наконечниками с аэрозольными фильтрами по 10 мкл разбавителя. Закрывать фоновые пробирки.

4. Добавить в оставшиеся пробирки индивидуальными наконечниками с аэрозольными фильтрами по 5 мкл раствор Taq-полимеразы.

5. Добавить индивидуальными наконечниками с аэрозольными фильтрами по 5 мкл:

а) в пробирку **отрицательного контрольного образца** – разбавитель;

б) в пробирки **исследуемых образцов** – исследуемые образцы ДНК;

в) в пробирку **положительного контрольного образца** – положительный контрольный образец ДНК из комплекта набора.

6. Пробирки плотно закрыть и центрифугировать в течение 15 сек на микроцентрифуге-вортексе.

7. Перенести пробирки в прогретый до температуры +80°C амплификатор и провести амплификацию по следующей программе:

Для всех возбудителей, кроме <i>Lactobacillus spp.</i> :			Для <i>Lactobacillus spp.</i> :		
+80 °C	Пауза		+80 °C	Пауза	
+80 °C	2 мин		+80 °C	2 мин	
+94 °C	1 мин 30 сек		+94 °C	1 мин 30 сек	
+94 °C	10 сек	5 циклов	+94 °C	10 сек	5 циклов
+64 °C	40 сек		+64 °C	40 сек	
+94 °C	5 сек	35 циклов	+94 °C	5 сек	30 циклов
+64 °C	30 сек		+64 °C	30 сек	
+10 °C	Сохранение		+10 °C	Сохранение	

При использовании амплификатора "Терцик" выбрать алгоритм регулирования "точный".

Объем реакционной смеси 40 мкл.

6. После окончания амплификации перенести пробирки в детектор и провести измерения со следующими пороговыми значениями

Возбудитель	канал	Детектор Gene4(2)		Детектор ALA-1/4	
		-	+	-	+
Внутренний контроль	HEX	2,25		2,5	
<i>Atopobium vaginae</i>	FAM	3,9	4,6	3,2	3,6
<i>Bacteroides spp.</i>	FAM	5,0	5,9	4,5	5,5
<i>Candida albicans</i>	FAM	3,5	4,2	3,5	4,2
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	FAM	2,7	3,0	2,7	3,1
<i>Chlamydia trachomatis</i>	FAM	3,3	3,8	3,2	3,6
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	FAM	4,3	4,9	2,3	2,6

<i>Cytomegalovirus</i>	FAM	3,2	3,6	2,8	3,1
<i>Enterococcus faecalis, E.faecium</i>	FAM	3,0	3,3	2,5	3,0
<i>Enterobacter spp., Klebsiella spp.</i>	FAM	2,7	3,0	2,7	3,0
<i>Epstein Barr virus</i>	FAM	3,3	3,7	2,4	2,7
<i>Escherichia coli</i>	FAM	3,5	3,8	3,3	3,6
<i>Gardnerella vaginalis</i>	FAM	12	13	12,7	13,9
<i>Herpes simplex virus 1**</i>	FAM	2,7	3,0	2,6	3,0
<i>Herpes simplex virus 1+2*</i>	FAM	2,6	2,9	2,3	2,6
<i>Herpes simplex virus 2**</i>	FAM	2,7	3,0	2,2	2,6
<i>Human papilloma virus 16**</i>	FAM	3,6	4,0	3,6	4,2
<i>Human papilloma virus 16+18*</i>	FAM	2,45	2,8	2,9	3,4
<i>Human papilloma virus 16+18**</i> (для приборов с возможностью детекции по каналу ROX)	FAM (16)	3,6	4,0	4,9	5,4
	ROX (18)	2,2	2,6	1,6	1,8
<i>Human papilloma virus 18**</i>	FAM	3,3	3,7	2,6	3,0
<i>Human papilloma virus 6+11*</i>	FAM	3,0	3,3	2,6	2,8
<i>Human papilloma virus 6+11**</i> (для приборов с возможностью детекции по каналу ROX)	FAM (6)	3,7	4,3	4,0	4,4
	ROX (11)	2,0	2,3	1,4	1,6
<i>Human papilloma virus 31+33* НОВИНКА</i>	FAM	3,0	3,3	2,2	2,4
<i>Lactobacillus spp.</i>	FAM	6,3	7,7	5,7	6,2
<i>Listeria spp</i>	FAM	3,5	3,8	2,2	2,5
<i>Mobiluncus curtisii</i>	FAM	3,3	3,7	4,3	5,3
<i>Mycoplasma genitalium</i>	FAM	2,0	2,25	2,0	2,3
<i>Mycoplasma hominis</i>	FAM	3,4	4,0	2,8	3,2
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	FAM	2,5	3,0	2,5	3,0
<i>Mycobacterium (tuberculosis+bovis),</i>	FAM	3,2	3,6	2,8	3,2
<i>Neisseria gonorrhoeae*</i>	FAM	3,0	3,3	3,4	4,0
<i>Proteus spp.</i>	FAM	3,3	3,8	2,9	3,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	FAM	3,0	3,3	3,1	3,6
<i>Serratia spp.</i>	FAM	3,6	4,0	3,5	3,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	FAM	4,2	4,8	3,2	3,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	FAM	3,0	3,3	2,7	3,2
<i>Streptococcus spp.</i>	FAM	3,5	4,0	2,2	2,5
<i>Toxoplasma gondii</i>	FAM	3,8	4,4	3,5	4,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	FAM	3,3	3,7	4,5	5,3
<i>Ureaplasma parvum</i>	FAM	4,5	5,1	4,5	5,1
<i>Ureaplasma spp.</i>	FAM	3,2	3,7	3,2	4,1
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	FAM	3,8	4,2	4,4	5,4
Резистентность <i>Enterobacteriaceae</i> к цефалоспоридам	FAM	2,5	2,7	2,5	2,8
Резистентность <i>Staphylococcus aureus</i> к цефалоспоридам	FAM	2,00	2,25	2,4	2,8
ФЛУОРОПЛЕКС <i>Chlamydia trachomatis</i> u <i>Mycoplasma hominis**</i> НОВИНКА	FAM (Chl.tr.)	3,3	3,8	2,7	3,2
	ROX (M.hom.)	2,0	2,3	1,3	1,5
ФЛУОРОПЛЕКС <i>Neisseria gonorrhoeae</i> u <i>Trichomonas vaginalis**</i> НОВИНКА	FAM (N.gon.)	3,5	4,0	3,4	4,0
	ROX (Trich.vag.)	3,0	3,3	2,4	3,0

* Наборы реагентов без конкретизации типа. ** типоспецифичные наборы.

8. Анализ результатов проведите согласно «Руководству по применению наборов формата ФЛУОРОПОЛ-КТ».

По всем вопросам обращайтесь в офис компании ООО НПФ «Литех»: многоканальный телефон (495) 258-39-47, e-mail: info@lytech.ru 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, дом 1, строение 3