



ПАМЯТКА ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ С НАБОРАМИ
ФОРМАТА **ФЛУОРОПОЛ-КТ**. Комплектация OneStep.

ВНИМАНИЕ! ВСЕ КОМПОНЕНТЫ УЖЕ ВНЕСЕНЫ. ДОБАВЬТЕ ТОЛЬКО ОБРАЗЦЫ И КОНТРОЛИ.

1. Достать из коробки и промаркировать необходимое число пробирок. Достать две фоновые пробирки (**обозначены Ф**). Для теста на каждую инфекцию необходимо использовать свои фоновые пробирки.
2. Полностью разморозить содержимое пробирок.
При необходимости, если часть раствора находится на внутренней стороне крышки пробирки, отцентрифугировать пробирку 3-5 сек на микроцентрифуге-вортексе.
3. Добавить во все пробирки индивидуальными наконечниками с аэрозольными фильтрами по 5 мкл:
 - в пробирки исследуемых образцов – исследуемые образцы ДНК;
 - в пробирку отрицательного контрольного образца – разбавитель из комплекта набора;
 - в пробирку положительного контрольного образца – положительный контрольный образец ДНК из комплекта используемого набора;
4. Пробирки плотно закрыть и **центрифугировать** в течение 15 сек на плашечной центрифуге или микроцентрифуге-вортексе.
5. Перенести пробирки в прогретый до температуры +94⁰С амплификатор и провести амплификацию по следующей программе:

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

Для <i>Lactobacillus spp.</i> :		
+94 °С	Пауза	
+94 °С	1 мин 30 сек	
+94 °С	10 сек	5 циклов
+64 °С	40 сек	
+94 °С	5 сек	30 циклов
+64 °С	30 сек	
+10 °С	Хранение	

Объём смеси - 40 мкл. Для амплификатора "Терцик" выбрать алгоритм регулирования "точный".

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

Возбудитель	Канал	Детектор Gene4 (2)		Детектор ALA-1/4	
		-	+	-	+
<i>Внутренний контроль</i>	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> (приборы с детекцией по 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> (приборы с детекцией по 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*</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>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	3,7	4,3	4,1	4,8
<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
<i>Резистентность к цефалоспорином</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	FAM	2,5	2,7	2,5	2,8
<i>Резистентность к цефалоспорином</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	FAM	2,0	2,25	2,4	2,8
ФЛУОРОПЛЕКС <i>Chlamydia trachomatis u</i>	FAM	3,3	3,8	2,7	3,2
	ROX	2,0	2,3	1,3	1,5
ФЛУОРОПЛЕКС <i>Neisseria gonorrhoeae u</i>	FAM	3,5	4,0	3,4	4,0
	ROX	3,0	3,3	2,4	3,0

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

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

Полное РУКОВОДСТВО ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ для обнаружения специфических участков ДНК возбудителей инфекций методом ПЦР с флуоресцентной детекцией результата по «КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ» (End Point) доступно на официальном сайте компании: www.lytech.ru

Вы можете обратиться в НПФ «ЛИТЕХ» - телефон/факс: (495) 258-39-47, e-mail: info@lytech.ru
адрес: 107023, г. Москва, ул. Малая Семёновская, д.3А, стр.2,