



Служба клиентской поддержки:  
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),  
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья,  
звонок платный).  
E-mail: hotline@dna-technology.ru,  
www.dna-technology.ru

Регистрационное удостоверение  
№ ФСР 2010/08811 от 10 сентября 2010 года

## **Набор реагентов для выявления, типирования и количественного определения вируса папилломы человека методом ПЦР HPV КВАНТ**

**Вариант комплектации: HPV квант-15**  
**Каталожный номер: R1-P316-S3/4**

### **Информация о наборе**

#### **Назначение:**

Набор реагентов HPV КВАНТ предназначен для выявления, типирования и количественного определения ДНК вируса папилломы человека низкого (HPV 6, 11, 44) и высокого канцерогенного риска (HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82).

Комплектация HPV квант-15 предназначена для выявления и количественного определения ДНК вируса папилломы человека следующих типов:

Вирус папилломы человека низкого канцерогенного риска:

HPV 6, 11 (без типирования).

Вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска:

HPV 16, 31, 33, 35, 52, 58 (без типирования);

HPV 18, 39, 45, 59 (без типирования);

HPV 56;

HPV 51;

HPV 68.

Набор может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

#### **Метод:**

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный и количественный мультиплексный анализ.

Количественное определение ДНК HPV представлено двумя типами анализа: абсолютным и относительным. При абсолютном типе анализа после прохождения амплификации по показателю индикаторного цикла (пороговый цикл,  $C_p$ ) программно рассчитывается количество копий ДНК вируса в забранном образце. При относительном типе анализа используется подход нормализации количества ДНК вируса на количество геномной ДНК человека (КВМ) в данном образце (т.е. на количество клеток в образце), в результате чего учитывается разброс при взятии клинического материала.

**ВНИМАНИЕ!** Клинически значимая концентрация вируса составляет более  $10^3$  копий ДНК HPV на  $10^5$  клеток человека (при корректном взятии материала), что характеризует высокий уровень инфекции и может привести к развитию неоплазии шейки матки. Поэтому при относительном типе анализа результатов ПЦР по умолчанию используется программное ограничение полученных значений концентрации вируса, если они не попадают в клинически значимый диапазон.

#### **Материал для исследования:**

Соскобы эпителиальных клеток из цервикального канала, с шейки матки, из уретры.

#### **Выделение ДНК:**

Комплекты реагентов для выделения ДНК: ПРОБА-ГС-ПЛЮС и ПРОБА-НК-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология»).

#### **Особенности комплекта:**

Одновременная детекция (мультиплексный анализ) – в одной пробирке определяются несколько ДНК-мишеней.

Внутренний контрольный образец (ВК) – присутствует в каждой пробирке с амплификационной смесью, необходим для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

Контроль взятия материала (КВМ) – требуется для анализа качества взятия исследуемого материала. В относительном типе анализа используется для нормализации количества ДНК вируса в образце.

Маркер – используется прибором для определения положения стрипованных пробирок (стрипов) в палаше.

# Изучите полную инструкцию №175-4 от 07.08.17 перед началом работы

## Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт<sup>1</sup>, ДТпрайм<sup>2</sup> или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.5.5.23<sup>3</sup>.

## Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки):

от 2,5 часов.

## Количество определений:

Набор реагентов в комплектации HPV квант-15 рассчитан на 48 определений.

## Состав набора в комплектации HPV квант-15 включает:

Реактив	Количество	
• Смеси для амплификации, запечатанные парафином	20 мкл	24 стрипа по 8 пробирок
• Раствор Таq-полимеразы МАХ	500 мкл	4 пробирки
• Минеральное масло	1,0 мл	4 пробирки
• Положительный контрольный образец HPV квант-15	150 мкл	1 пробирка

## Состав стрипов, цветовой маркировка и каналы детекции продуктов амплификации для набора в комплектации HPV квант-15

№ пробирки в стрипе	Канал детекции				Цветовая маркировка буфера
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1,5	HPV <b>16, 31, 33, 35, 52, 58</b>	ВК	-	HPV <b>56</b>	Голубой
2,6	HPV <b>18, 39, 45, 59</b>	ВК	-	HPV <b>6, 11</b>	Бесцветный
3,7	HPV <b>51</b>	ВК	Маркер	HPV <b>68</b>	
4,8	КВМ	ВК	-	-	

## Проведение анализа

### 1 Выделение ДНК

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов. Рекомендуемые комплекты для выделения ДНК из биологического материала: ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-НК-ПЛЮС.

О возможности использования других комплектов/наборов реагентов для выделения ДНК из биологического материала совместно с набором реагентов в комплектации HPV квант-15 можно узнать у представителя компании.

**ВНИМАНИЕ!** Комплект для выделения ДНК из биологического материала не входит в состав набора реагентов в комплектации HPV квант-15.

### 2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

#### 2.1

Промаркируйте стрипы со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

Примечание - Один стрип рассчитан на исследование двух образцов.

Например, необходимо проанализировать два образца. Нужно промаркировать один стрип для исследуемых образцов, один для «К-» и «К+». Общее количество стрипов – два.

Образец 1	Пробирки 1 – 4
Образец 2	Пробирки 5 – 8
«К-»	Пробирки 1 – 4
«К+»	Пробирки 5 – 8

#### 2.2

Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы МАХ в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

#### 2.3

Добавьте в каждую пробирку стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы МАХ.

<sup>1</sup> – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

<sup>2</sup> – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

<sup>3</sup> – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/po/>

## **Изучите полную инструкцию №175-4 от 07.08.17 перед началом работы**

- 2.4** Добавьте в каждую пробирку стрипов по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки стрипов.
- 2.5** Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех стрипов, в которые будут вноситься данные образцы, и закрывать их перед внесением следующих. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.  
Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в каждую пробирку стрипов для исследуемых образцов.
- 2.6** Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирки, маркированные «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирки, маркированные «К+».
- 2.7** Центрифугируйте стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 2.8** Установите все стрипы в блок детектирующего амплификатора.
- 2.9** Запустите программное обеспечение RealTime\_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «HPV quant.ini». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол тест «HPV\_квант-15», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (2.8) и проведите ПЦР.
- 3** **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

### **Условия транспортирования, хранения и эксплуатации**

Все компоненты набора реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности.

Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Срок годности набора – 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для выявления, типирования и количественного определения вируса папилломы человека методом ПЦР (HPV КВАНТ), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.6,  
тел./факс +7 (495) 640-17-71.

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),  
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru), [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:  
[http://www.dna-technology.ru/customer\\_support/](http://www.dna-technology.ru/customer_support/)

С полной инструкцией № 175-4 от 07.08.17 по применению набора реагентов для выявления, типирования и количественного определения вируса папилломы человека методом ПЦР (HPV КВАНТ) для всех вариантов комплектации можно ознакомиться на интернет-сайте компании «ДНК-Технология» по адресу: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь за полной инструкцией к представителю компании.

**Изучите полную инструкцию №175-4 от 07.08.17 перед началом работы**

ДНК-Технология  
117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6  
Тел./факс +7 (495) 640-17-71  
Служба клиентской поддержки:  
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный)  
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)  
E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru)