



Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2024/22373 от 09 апреля 2024 года



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов *C.trachomatis*/*T.vaginalis* Комплекс в фасовке S.
Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для выявления ДНК *Chlamydia trachomatis* и *Trichomonas vaginalis* методом ПЦР в режиме реального времени *C.trachomatis*/*T.vaginalis* Комплекс



R1-P116-23/9 (Фасовка S, пробирки)

R1-P116-S3/9 (Фасовка S, стрипы)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Chlamydia trachomatis* и *Trichomonas vaginalis* в биологическом материале человека (моча, соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта) методом ПЦР в режиме реального времени.

Выделение ДНК¹:

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛИУС, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛИУС (ООО «НПО ДНК-Технология»), ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД (ООО «ДНК-Технология ТС»).

Примечание - Комплект реагентов ПРОБА-РАПИД не рекомендуется для выделения ДНК из соскобов из урогенитального тракта у мужчин.

Специализированное оборудование:

Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»², «ДТлайт»³ (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Био-Рад Лабораториес, Инк), Applied Biosystems QuantStudio 5, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд».

Время проведения анализа (не включая пробоподготовку):

от 1,5 часов (в зависимости от количества образцов).

Количество анализируемых образцов:

Набор реагентов рассчитан на 96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов, положительных контрольных образцов.

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ⁴	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ⁵	12 шт.		

Т а б л и ц а 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex/Vic	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	BK	-	<i>Chlamydia trachomatis</i>	-

¹ - возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала

² - модификация *M*

³ - модификация *S*

⁴ - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

⁵ - входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации, запечатанной парафином, в стрипы

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
2. При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

1.1 Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 24 постановки при условии вариабельного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 4 неизвестных образца. Для этого нужно промаркировать 4 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.

1.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.

1.3 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

1.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте пробирки/стрипы.

1.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ОПТИМА встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.
2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-ГС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте при RCF(g) 12000-16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.
4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

1.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки для неизвестных образцов, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К-», «К+», ДНК не вносится.

1.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

1.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.

1.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.

1.10 Установите все пробирки/стрипы в детектирующий амплификатор.

- 1.11** Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:
Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл. При выборе теста должна отображаться программа, приведенная в таблице 2.
- 1.12** Для детектирующих амплификаторов CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5:
Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведенным в таблицах 3, 4 соответственно.

Т а б л и ц а 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	10 ²	...	...	Хранение		Хранение
√ - режим оптических измерений						

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96

№ блока (Step)	Температура, °C	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	0:15	50
4	64 ✓	0:20	
✓ - режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex, Cy5) при 64 °C			

Т а б л и ц а 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5

Стадия	№ шага	Температура, °C	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	80	01:00	1
	2	94	01:30	1
Стадия ПЦР	1	94	0:20	50
	2	64 ✓	0:20	
✓ - сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex), Cy5) включен				

¹ - тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов

² - допускается хранение при температуре 25 °C

2 **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».

Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Если для биологического образца получены значения Cp/Cq/Ct менее 24 на каналах детекции Fam или Cy5, то это говорит о высокой первоначальной концентрации ДНК соответствующего микроорганизма. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата для микроорганизма, ДНК которого присутствует в низкой концентрации. Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ПЦР выделенного препарата ДНК с использованием Набора реагентов для выявления ДНК хламидии трахоматис (*Chlamydia trachomatis*) методом полимеразной цепной реакции (ХЛАМИ-ГЕН), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2008/03890 и Набора реагентов для выявления ДНК трихомонасы вагиналис (*Trichomonas vaginalis*) методом полимеразной цепной реакции (ТРИХО-ГЕН), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2008/03848

Т а б л и ц а 5 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq/Ct	Hex/Vic, Cp/Cq/Ct	Cy5, Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы			
Указан	Не учитывается	Не указан	Обнаружена ДНК Trichomonas vaginalis
Не указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК Chlamydia trachomatis
Указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК Trichomonas vaginalis Обнаружена ДНК Chlamydia trachomatis
Не указан	Указан	Не указан	Не обнаружена ДНК выявляемых микроорганизмов
Не указан	Не указан	Не указан	Недостоверный результат
Отрицательный контрольный образец			
Не указан	Указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец			
Указан	Указан	Указан	Положительный результат Результаты постановки валидны

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.
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