

Регистрационное удостоверение  
№ ФСР 2008/03945 от 27 февраля 2025 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов ЦМВ-ГЕН в фасовке S.**  
Перед началом работы изучите инструкцию.

## Набор реагентов для выявления ДНК цитомегаловируса человека (CMV) методом полимеразной цепной реакции ЦМВ-ГЕН

**REF** R1-P204-23/9 (Фасовка S, пробирки)  
R1-P204-S3/9 (Фасовка S, стрипы<sup>1</sup>)

### Информация о наборе реагентов

**Назначение:**

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК цитомегаловируса человека (CMV) методом ПЦР в биологическом материале человека: соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта и конъюнктивы глаза, моча, секрет простаты, эякулят, слюна, грудное молоко, периферическая/пуповинная кровь, ликвор, амниотическая жидкость, образцы ткани.

Набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

**Выделение ДНК:**

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

**Примечание** – Не рекомендуется использовать комплект реагентов ПРОБА-РАПИД при выделении ДНК из соскобов из урогенитального тракта мужчин.**Специализированное оборудование:**Детектирующие амплификаторы планшетного и роторного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, «ДТпрайм»<sup>2</sup> и «ДТлайт»<sup>3</sup> (ООО «НПО ДНК-Технология»), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH), CFX96 (Био-Рад Лабораториз, Инк), Applied Biosystems QuantStudio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.»).**Количество анализируемых образцов:**

96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и 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 <sup>4</sup> | Прозрачная бесцветная жидкость                                           | 1 пробирка                               | 130 мкл                      |
| Крышки для стрипов <sup>5</sup>                | 12 шт.                                                                   |                                          |                              |

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

| Fam/Green | Hex/Yellow/Vic | Rox/Orange | Cy5/Red | Cy5.5/Crimson |
|-----------|----------------|------------|---------|---------------|
| CMV       | BK             | -          | -       | -             |

<sup>1</sup> - не используется для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q<sup>2</sup> - модификация \*M\*<sup>3</sup> - модификация \*S\*<sup>4</sup> - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «K+»<sup>5</sup> - входит в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации, запечатанной парафином, в стрипы

## Проведение анализа

### 1 Выделение ДНК

Для выделения ДНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов для выделения НК ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-МЧ-РАПИД.

**Примечание** – Не рекомендуется использовать комплект реагентов ПРОБА-РАПИД при выделении ДНК из соскобов из урогенитального тракта мужчин.

**ВНИМАНИЕ!** Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объеме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

### 2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

#### **ВНИМАНИЕ!**

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирку 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!

#### 2.1 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 переменного 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.

#### 2.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

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

**ВНИМАНИЕ!** При использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q минеральное масло в пробирки не вносится!

#### 2.4 Добавьте в каждую пробирку (при необходимости) по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте пробирки/стрипы крышками.

#### 2.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

#### **ВНИМАНИЕ!**

1. Для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца перед внесением в пробирки с реакционной смесью необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведенные в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-РАПИД и ПРОБА-ГС (только в случае, если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки), необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 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-вортексе в течение 1-3 с, затем поместить пробирки 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-вортексе в течение 3-5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе 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. Необходимо закрывать пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

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

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

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

- 2.9** Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с (при использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).
- 2.10** Установите все пробирки/стрипы в детектирующий амплификатор.
- 2.11** **Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:**  
Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест<sup>1</sup>. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см.2.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.
- 2.12** **Для детектирующих амплификаторов Rotor-Gene Q, CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5:**  
Проведите ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведённым в таблицах 3, 4, 5 соответственно.

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

| № блока | Температура, °С | 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       | 25 <sup>2</sup> | ... | ... | Хранение     |                            | Хранение  |

√ - режим оптических измерений

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q

| № / Cycling | Температура, °С / Temperature | Время, с / Hold Time, s | Количество циклов / Cycle Repeats |
|-------------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Cycling     | 80 deg                        | 60                      | 1 time                            |
|             | 94 deg                        | 90                      |                                   |
| Cycling 2   | 94 deg                        | 30                      | 5 times                           |
|             | 57 deg √                      | 15                      |                                   |
| Cycling 3   | 94 deg                        | 10                      | 45 times                          |
|             | 57 deg √                      | 15                      |                                   |

√ - режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам детекции Green (Fam) и Yellow (Hex) при 57 °С

Т а б л и ц а 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96

| № блока (Step) | Температура, °С | Время, мин: сек | Количество циклов (повторов) |
|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| 1              | 80              | 01:00           | 1                            |
| 2              | 94              | 01:30           | 1                            |
| 3              | 94              | 00:15           | 50                           |
| 4              | 64 √            | 00:20           |                              |

√ - режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex) при 64 °С

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

| Стадия           | № шага | Температура, °С | Время, мин: сек | Количество циклов (повторов) |
|------------------|--------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| Стадия удержания | 1      | 80              | 01:00           | 1                            |
|                  | 2      | 94              | 01:30           | 1                            |
| Стадия ПЦР       | 1      | 94              | 00:20           | 50                           |
|                  | 2      | 64 √            | 00:20           |                              |

√ - сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex)) включен

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

<sup>2</sup> - допускается хранение при температуре 10 °С

**3**      **Регистрация и учёт результатов ПЦР** осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

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 6. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Т а б л и ц а 6 – Интерпретация результатов ПЦР

| Канал детекции                    |                             | Интерпретация результата                                 |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------|
| Fam/Green,<br>Cp/Cq/Ct            | Hex/Yellow/Vic,<br>Cp/Cq/Ct |                                                          |
| Неизвестные образцы               |                             |                                                          |
| Указан                            | Не учитывается              | Обнаружена ДНК CMV                                       |
| Не указан                         | Указан                      | Не обнаружена ДНК CMV                                    |
| Не указан                         | Не указан                   | Недостоверный результат                                  |
| Отрицательный контрольный образец |                             |                                                          |
| Не указан                         | Указан                      | Отрицательный результат<br>Результаты постановки валидны |
| Положительный контрольный образец |                             |                                                          |
| Указан                            | Не учитывается              | Положительный результат<br>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 защищённом от света месте.

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

**Символы, используемые при маркировке набора реагентов**

|                                                                                     |                                                     |                                                                                     |                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
|   | Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> |   | Номер по каталогу                                                                       |
|  | Температурный диапазон                              |  | Изготовитель                                                                            |
|  | Содержимого достаточно для проведения <n> тестов    |  | Не допускать воздействия солнечного света                                               |
|  | Использовать до                                     |  | Нестерильно                                                                             |
|  | Код партии (серии)                                  |  | Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде |
|  | Дата изготовления                                   |                                                                                     |                                                                                         |