



1226 2026-01-28



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления ДНК грибов рода *Trichophyton* с идентификацией вида *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotineae* и мутаций в гене *ERG1*, определяющих резистентность к антимикотическим препаратам, методом ПЦР в режиме реального времени

МикозоРезиста *Trichophyton*

Регистрационный номер
Г004-00110-00/04211976 от 26.01.2026

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав набора реагентов.....	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	5
2.3	Принцип метода	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
3.1	Аналитическая специфичность	7
3.2	Интерферирующие вещества	7
3.3	Предел обнаружения	8
3.4	Диагностические характеристики.....	9
3.5	Воспроизводимость и повторяемость	9
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	10
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	12
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	13
6.1	Материал для исследования	13
6.2	Взятие материала на исследование	13
6.3	Транспортирование и хранение образцов биологического материала.....	13
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	14
7.1	Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала	14
7.2	Подготовка и проведение ПЦР	14
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	16
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	17
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	19
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	20
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	20
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	20
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	20
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	21
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	22
	Приложение А.....	23

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
К-	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК)
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНКазы	- рибонуклеазы

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления ДНК грибов рода *Trichophyton* с идентификацией вида *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotinae* и мутаций в гене *ERG1*, определяющих резистентность к антимикотическим препаратам, методом ПЦР в режиме реального времени (МикозоРезиста Trichophyton), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выявления ДНК грибов рода *Trichophyton* с идентификацией вида *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotinae* и выявления мутаций в гене *ERG1* (Phe397Leu, Leu393Ser, Leu393Phe, Ser436Ala, His440Tyr, Ala448Thr), определяющих резистентность к антимикотическим препаратам, в биологическом материале человека (кожа и её придатки: волосы и ногти), методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению анализа:

- микозы кожи, волос и ногтей;
- резистентность к антимикотическим препаратам.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории: врач клинико-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

REF R1-P038-S3/4, фасовка S, стрипы			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Таq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец №1 ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Положительный контрольный образец №2 ²	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов	24 шт		

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов – 1 шт.;
- Вкладыш – 1 экз.;
- Инструкция по применению – 1 экз.;
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов рассчитан на проведение 48 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов: в режиме реального времени; качественный мультиплексный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей Таq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается для стандартной фасовки набора реагентов методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифическое связывание праймеров с ДНК-мишенью при более низких температурах.

¹ – на этикетке компонента «Положительный контрольный образец №1» указывается как «К+ №1»

² – на этикетке компонента «Положительный контрольный образец №2» указывается как «К+ №2»

ВК входит в состав реагента "Проба-Дерм", рекомендуемого к применению. Это позволяет контролировать все этапы исследования образцов, оценивать влияние ингибиторов на результаты, а также следить за качеством проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени в каждой отдельной пробирке.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических продуктов амплификации. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации фрагментов геномов определяемых грибов и соответствующих мутаций, включены флуоресцентные метки Fam, Rox и Cy5. В состав ДНК-зонда, используемого для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Hex.

Для контроля расположения стрипов в термоблоке детектирующего амплификатора в смесь для амплификации (пробирки №4, №8) добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Cy5 – «Маркер». Он используется прибором для определения положения стрипа в термоблоке детектирующего амплификатора. После прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение маркера с его реальным положением, и, если находит несовпадение (при неправильном расположении стрипа), то предупреждает оператора об этом несоответствии. В этом случае необходимо проверить расположение стрипов в термоблоке (первая пробирка отмечена голубым буфером) и скорректировать идентификаторы пробирок в протоколе.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок и биоматериала, необходимого для проведения исследования, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В таблице 1 приведены выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ пробирки в стрипе	Каналы детекции, выявляемые показатели				Цветовая маркировка смеси для амплификации
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1,5	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotineae</i>	ВК	<i>Trichophyton</i> spp.	–	Голубая
2,6	Phe397Leu	ВК	–	Leu393Phe	Бесцветная или розовая
3,7	His440Tyr	ВК	Leu393Ser	–	
4,8	Ser436Ala	ВК	Ala448Thr	Маркер	

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов МикозоРезиста Trichophyton.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах материала, содержащих ДНК выявляемых аналитов, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительные результаты амплификации специфических продуктов в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции.

В образцах материала, не содержащих ДНК выявляемых аналитов, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательные результаты амплификации специфических продуктов в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex.

Набор реагентов выявляет ДНК следующих мишеней грибов:

Род: *Trichophyton* spp.;

Вид: *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotinea*;

Мутации гена ERG1, соответствующие аминокислотным заменам: Phe397Leu, Leu393Ser, Leu393Phe Ser436Ala, His440Tyr, Ala448Thr.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждого компонента, входящего в состав набора, по отношению к другой мишени системы.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце ДНК *Nannizzia incurvata*, *Epidermophyton floccosum*, *Candida albicans*, *Malassezia furfur*, Human simplex virus 1, Human simplex virus 2, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, а также ДНК человека в концентрации до $1,0 \times 10^8$ копий/мл образца.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на амплификацию лабораторного контрольного образца и внутреннего контрольного образца составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца ДНК.

Для оценки возможной интерференции лекарственных препаратов были выбраны те, которые потенциально могут присутствовать в остаточных количествах в биологических образцах человека, взятых из соответствующих исследуемых биотопов (хлоргексидин биглюконат, Тербинафин, Клотримазол, Кетокензол, Аморолфин, Нафтифина гидрохлорид).

Для всех исследуемых лекарственных препаратов было показано отсутствие их влияния в концентрации до 10% в образце биоматериала.

Оценка влияния интерферирующих веществ в образцах биологического материала на результаты исследования представлена в таблице ниже.

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце
Эндогенные вещества		
Образцы кожи	Гемоглобин	0,35 мг/мл
Экзогенные вещества		
Образцы кожи	Хлоргексидин биглюконат	10%
	Клотримазол	10%
	Тербинафин	10%
	Кетоконазол	10%
Образцы ногтей	Аморолфин	10%
	Нафтифина гидрохлорид	10%
Образцы волос	Кетоконазол	10%

Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия биологического материала.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения составляет по 5 копий ДНК каждого аналита на амплификационную пробирку.

Предел обнаружения аналитов, выявляемых с помощью набора реагентов МикозоРезиста Trichophyton, установлен путем анализа серийных разведений лабораторных контрольных образцов (ЛКО).

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации ДНК при использовании реагента ПРОБА-ДЕРМ и указанного конечного объема элюции (разведения) выделенной ДНК.

№	Название аналита	Предел обнаружения (копий на амплификационную пробирку)	Предел обнаружения (копий в 1,0 мл выделенной ДНК)	Предел обнаружения (копий/образец биоматериала) при элюции выделенной ДНК в 300 мкл
				ПРОБА-ДЕРМ
1	<i>Trichophyton</i> spp.	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
2	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotineae</i>	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
3	Phe397Leu	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
4	Leu393Phe	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
5	His440Tyr	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
6	Leu393Ser	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
7	Ser436Ala	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²
8	Ala448Thr	5	1,0×10 ³	3,0×10 ²

3.4 Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Аналит	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Кожа	<i>Trichophyton</i> spp.	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotineae</i>	100% (95% ДИ: 78,20% - 100%)	100% (95% ДИ: 92,89% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Phe397Leu)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Phe)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена His440Tyr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Ser)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ser436Ala)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ala448Thr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
Волосы	<i>Trichophyton</i> spp.	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotineae</i>	100% (95% ДИ: 78,20% - 100%)	100% (95% ДИ: 92,89% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Phe397Leu)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Phe)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена His440Tyr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Ser)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ser436Ala)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ala448Thr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
Ногти	<i>Trichophyton</i> spp.	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% - 100%)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotineae</i>	100% (95% ДИ: 78,20% - 100%)	100% (95% ДИ: 92,89% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Phe397Leu)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Phe)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена His440Tyr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Leu393Ser)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ser436Ala)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
	Мутация гена <i>ERG1</i> (замена Ala448Thr)	100% (95% ДИ: 29,24% - 100%)	100% (95% ДИ: 94,48% - 100%)
Итого		100% (95% ДИ: 97,90% - 100%)	100% (95% ДИ: 98,13% - 100%)

3.5 Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость составляет 100 %

Повторяемость составляет 100 %.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории.

Выделение ДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Подготовку к ПЦР с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК и постановка ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР (МУ 1.3.2569-09).

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Нет опасных веществ	–
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	–
Минеральное масло	Нет опасных веществ	–
Положительный контрольный образец №1	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Положительный контрольный образец №2	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности, контакт с организмом человека исключён.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

- ПЦР-бокс;
- амплификатор с детекцией в режиме реального времени¹;
- микроцентрифуга-вортекс²;
- ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл;
- холодильник с морозильной камерой;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объем жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл;
- наконечники одноразовые с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- Реагент для выделения ДНК бактерий и грибов из кожи человека и её придатков (ПРОБА-ДЕРМ), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

Набор реагентов применяется с детектирующими амплификаторами планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- обеспечивается работа с объемом реакционной смеси 35 мкл;
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Rox, Cy5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более ± 0,4 °С.

¹ – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже

² – рекомендуется Встряхиватель лабораторный медицинский «ДТспин» по ТУ 32.50.50-003-96301278-2024, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24070; ротор для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл входит в комплектацию

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм II» по ТУ 26.51.53-001-96301278-2022 (модификация «ДТпрайм II *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24179, далее по тексту – «ДТпрайм II»;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228, далее по тексту – «ДТлайт»;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с модулем реакционным оптическим CFX96 (Optical Reaction Module CFX96), Био-Рад Лабораториз, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399, далее по тексту – CFX96.

По вопросам применения детектирующих амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют кожу и её придатки: волосы и ногти.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 и СанПиН 3.3686-21.

6.2 Взятие материала на исследование

Взятие материала проводится в соответствии с инструкцией по применению реагента ПРОБА-ДЕРМ.

6.3 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Условия транспортирования и хранения образцов биологического материала определяются инструкцией по применению реагента ПРОБА-ДЕРМ.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала

Для выделения ДНК из биологического материала валидирован реагент (ПРОБА-ДЕРМ).

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией по применению реагента ПРОБА-ДЕРМ.

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки согласно инструкции по применению реагента ПРОБА-ДЕРМ.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесями для амплификации!
2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте по 4 стрипованные пробирки со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-), для положительного контрольного образца №1 (К+ №1) и для положительного контрольного образца №2 (К+ №2) (таблица 2).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 12 постановок при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 2 положительных контрольных образцов в каждой постановке.

Примечания:

1. Один стрип рассчитан на исследование двух образцов.
2. Допускается использовать 2 положительных контрольных образца (К+ №1 и К+ №2) в первой постановке, а для дальнейших постановок с той же серией набора реагентов – только К+ №1.

Таблица 2 – Пример маркировки пробирок для исследования 2 неизвестных образцов

Анализируемые образцы	Маркировка пробирок в стрипе
Неизвестный образец №1	Стрип №1, пробирки 1–4
Неизвестный образец №2	Стрип №1, пробирки 5–8
«К-»	Стрип №2, пробирки 1–4
«К+№1»	Стрип №2, пробирки 5–8
«К+№2»	Стрип №3, пробирки 1–4

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

7.2.3 Добавьте во все промаркированные пробирки (включая «К-», «К+ №1» и «К+ №2»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.

7.2.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте стрипы крышками.

7.2.5 Встряхните пробирки с положительными контрольными образцами 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, приведённые в инструкции по применению реагента ПРОБА-ДЕРМ.

2. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать его перед внесением следующего. Необходимо закрывать стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.6 Внесите в соответствующие промаркированные стрипованные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К–», «К+ №1» и «К+ №2», ДНК не вносится.

7.2.7 Внесите в стрипованные пробирки, промаркированные «К–», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

7.2.8 Внесите в стрипованные пробирки, промаркированные «К+ №1», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца №1 (К+ №1).

7.2.9 Внесите в стрипованные пробирки, промаркированные «К+ №2», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца №2 (К+ №2).

7.2.10 Центрифугируйте все стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.2.11 Установите все стрипы в детектирующий амплификатор.

7.2.12 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 положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.11) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

7.2.13 Для детектирующего амплификатора CFX96:

Проведите ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблице 4.

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

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II» и «ДТлайт» (фасовка S)

№ 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	25 ¹	Хранение		Хранение

√ – режим оптических измерений

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFХ96 (фасовка S)

№ блока (Step)	Температура, °C	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 каналам детекции (Fam, Hex, Rox, Cy5) при 64 °C

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1 Учёт результатов амплификации осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

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

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

ВНИМАНИЕ!

- Результат анализа считается недостоверным, если ДНК *Trichophyton* spp. не обнаружена, но при этом выявлена ДНК *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotineae*.
- Обнаружение любой мутации в гене *ERG1* считается достоверным только при одновременном обнаружении ДНК *Trichophyton* spp.

9.4 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате нуклеиновых кислот, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно).

9.5 При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

9.6 При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Таблица 5 – Интерпретация результатов ПЦР

№ пробиры в стрипе	Канал детекции				Интерпретация результата
	Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cp/Cq	Cy5, Cp/Cq	
Неизвестные образцы					
1,5	≤35	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotinae</i>
	>35	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>indotinae</i>, но ДНК недостаточно для определения наличия мутаций в гене <i>ERG1</i>¹
	Не указан	Не учитывается	≤35	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Trichophyton</i> spp.
	Не указан	Не учитывается	>35	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Trichophyton</i> spp., но ДНК недостаточно для определения наличия мутаций в гене <i>ERG1</i>¹
	Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
2,6	Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена замена Phe397Leu
	Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена замена Leu393Phe
3,7	Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена замена His440Tyr
	Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена замена Leu393Ser
4,8	Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена замена Ser436Ala
	Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена замена Ala448Thr
Для всех пробирок	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена ДНК определяемых микроорганизмов, не обнаружены мутации в гене <i>ERG1</i>
	Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец					
1,5	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
2,6	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	
3,7	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	
4,8	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	
Положительный контрольный образец №1					
1,5	Указан	Указан	Указан	Не указан	Положительный результат Результаты постановки валидны
2,6	Указан	Указан	Не указан	Не указан	
3,7	Указан	Указан	Указан	Не указан	
4,8	Не указан	Указан	Указан	Не указан	
Положительный контрольный образец №2					
1,5	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Положительный результат Результаты постановки валидны
2,6	Не указан	Указан	Не указан	Указан	
3,7	Не указан	Указан	Не указан	Не указан	
4,8	Указан	Указан	Не указан	Не указан	

¹ – низкое количество ДНК (Cp >35) может обусловить ложноотрицательный результат при определении мутаций *ERG1*.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 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.

10.1.2 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.

10.1.3 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

10.2.1 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. Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- 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;
- смеси для амплификации, запечатанные 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.

10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

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

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 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		

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ТУ 20.59.52-040-89545560-2025 Набор реагентов для выявления ДНК грибов рода *Trichophyton* с идентификацией вида *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotinae* и мутаций в гене *ERG1*, определяющих резистентность к антимикотическим препаратам, методом ПЦР в режиме реального времени (МикозоРезиста Trichophyton)

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации (ЕСКД). Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство (СРПП). Медицинские изделия

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС» (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

- ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.
- ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская область, г.о. Серпухов, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.

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

Приложение А

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II» и «ДТлайт»
при использовании набора реагентов МикозоРезиста Trichophyton
в фасовке S**

- 1) Количество пробирок в тесте – 4;
- 2) Объем реакционной смеси – 35 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ 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	25 ¹	Хранение		Хранение

√ – режим оптических измерений

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Номер пробирки в стрипе	Канал детекции, выявляемый показатель			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
1,5	<i>Trichophyton mentagrophytes var. indotineae</i>	BK	<i>Trichophyton spp.</i>	-
2,6	Phe397Leu	BK	-	Leu393Phe
3,7	His440Tyr	BK	Leu393Ser	-
4,8	Ser436Ala	BK	Ala448Thr	Маркер

Номер 1226
2026-01-28

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C