



Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2023/19667 от 01 марта 2023 года



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов *C. diphtheriae* Tox в фасовке S. Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для выявления ДНК *Corynebacterium diphtheriae* с дифференциацией токсигенных и нетоксигенных штаммов методом ПЦР в режиме реального времени *C. diphtheriae* Tox

REF

**R1-P445-23/4 (Фасовка S, пробирки)
R1-P445-S3/4 (Фасовка S, стрипы)**

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК и дифференциации токсигенных и нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* в биологическом материале человека (мазки/соскобы со слизистой оболочки носоглотки, мазки с пораженных участков кожи) и бактериальных культурах из этого биоматериала методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Выделение ДНК:

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения НК ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-ОПТИМА

Специализированное оборудование:

Амплификаторы детектирующие «ДТлайт¹», «ДТпрайм»² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Время проведения анализа (не включая пробоподготовку): от 1,5 часов.

Количество исследуемых образцов: Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 48 определений, что соответствует при одновременном исследовании 46 неизвестным образцам, отрицательному контрольному образцу и положительному контрольному образцу.

Состав набора реагентов:

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под высокообразным белым слоем	6 стрипов по 8 пробирок или 48 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ³		6 шт.	

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

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>C. diphtheriae</i> (tox+)	ВК	-	<i>C. diphtheriae</i>	-

¹ – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

² – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

³ - входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации в стрипы.

Проведение анализа

- 1 Выделение ДНК**

Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора/комплекта реагентов.

Для выделения ДНК рекомендуется использовать «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛУС) по ТУ 9398-035-46482062-2009» в форме комплектации: комплект ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867); Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в следующих формах комплектации: ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08696), Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ) в следующей комплектации: ПРОБА-МЧ-РАПИД (ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2017/5753), Набор реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА-ОПТИМА) (ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496).

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объёме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.
 - 2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции**

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации.

ВНИМАНИЕ! 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 необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для исследуемых образцов, для отрицательного контрольного образца «К-» и положительного контрольного образца «К+».

Пример: необходимо проанализировать 4 образца. Для этого следует промаркировать 4 пробирки для исследуемых образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.
 - 2.2** Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.
 - 2.3** Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.
 - 2.4** Добавьте в каждую пробирку по одной капле минерального масла (около 20 мкл). Закройте пробирки.
 - 2.5** Встряхните пробирки с препаратом ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.
- ВНИМАНИЕ!**
1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при RCF(g) 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 в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе. Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса ротора. Для определения соответствия центрифуги заданным параметрам центрифугирования обратитесь к руководству по эксплуатации.
 2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 3. 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 носить наконечниками с фильтром.
- 2.6** Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл выделенного из образца 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 в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 - 2.10** Установите все пробирки/стрипы в блок амплификатора.
 - 2.11** Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора в режиме «Работа с прибором» и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл. Параметры, которые вводятся при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объём реакционной смеси и т.п.) можно сохранить в виде готового файла. Для удобства работы при первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «C. diphtheriae Tox_S».

При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР.

3 Регистрация и учёт результатов ПЦР проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 2. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Т а б л и ц а 2 - Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции					Результат	Интерпретация результата
Fam	Hex	Cy5				
Анализируемые образцы						
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружен ген tox <i>C. diphtheriae</i> , обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> токсигенных штаммов (ген tox+) *	
Ср не указан	Не учитывается	Ср ≤ 35	+	Ген tox <i>C. diphtheriae</i> не обнаружен, обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> нетоксигенных штаммов (ген tox-)	
Ср не указан	Не учитывается	Ср > 35	+	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> . Количество ДНК недостаточно для определения наличия или отсутствия гена tox <i>C. diphtheriae</i>	Полученный результат может быть связан с низким содержанием <i>C. diphtheriae</i> в клиническом образце, с перекрёстной контаминацией высококопийными образцами или с ингибированием ПЦР**	
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	Ген tox <i>C. diphtheriae</i> не обнаружен, ДНК <i>C. diphtheriae</i> не обнаружена	Не обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	нд	Обнаружен ген tox <i>C. diphtheriae</i> , ДНК <i>C. diphtheriae</i> не обнаружена	Недостовверный результат	
Ср не указан	Ср не указан	Ср не указан	нд	Недостовверный результат	Недостовверный результат	
Отрицательный контрольный образец						
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	Не обнаружен ген tox <i>C. diphtheriae</i> , не обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Отрицательный результат Результаты постановки валидны	
Положительный контрольный образец						
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружен ген tox <i>C. diphtheriae</i> , обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Положительный результат Результаты постановки валидны	
* - истинная токсигенность во всех случаях должна быть подтверждена фенотипическими тестами						

** - следует однократно провести повторное взятие биоматериала и/или повторное выделение ДНК и проведение ПЦР. В случае повторения результата, следует выдать итоговый результат «Обнаружена ДНК *C. diphtheriae*. Количество ДНК недостаточно для определения наличия или отсутствия гена tox *C. diphtheriae*».

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера не более 5 суток.

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

Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq MAX, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности. Полимеразу ТехноТaq MAX следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °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 *C. diphtheriae* Tox, 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

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Номер по каталогу		Код партии (серии)
	Предел температуры		Дата изготовления		Нестерильно
	Использовать до		Обратитесь к инструкции по применению		Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Не допускать воздействия солнечного света		Изготовитель		