



Регистрационный номер
Г004-00110-00/04194882 от 23.01.2026



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов *Bordetella holmesii* в фасовке S.

Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для выявления ДНК *Bordetella holmesii* методом ПЦР в режиме реального времени (*Bordetella holmesii*)



R1-P041-23/4 (Фасовка S, пробирки)

R1-P041-S3/4 (Фасовка S, стрипы)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Bordetella holmesii* в биологическом материале человека (мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки) и бактериальных культурах методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Выделение ДНК¹:

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (ООО «ДНК-Технология ТС»).

Специализированное оборудование:

Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, «ДТпрайм»², «ДТпрайм II»² и «ДТлайт»³ (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Био-Рад Лабораториес, Инк).

Дополнительно, для автоматизированного дозирования (только для фасовки S, стрипы):

Устройство дозирующее ДТстрим 12М1 или ДТстрим 15М1 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Количество анализируемых образцов:

48 определений (не более 12 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	48 пробирок или 6 стрипов по 8 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 ⁴	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ⁵	6 шт.		

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

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>Bordetella holmesii</i>	BK	–	–	–

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

² – модификация *М*

³ – модификация *S*

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

⁵ – входит 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 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!
3. Для набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы» предусмотрена возможность автоматизированного дозирования с использованием дозирующего устройства ДТстрим согласно руководству по эксплуатации.

- 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 12 постановок 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-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе 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. Неплотно прикройте пробирки/стрипы крышками.
- 1.5** 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, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-НК-ПЛЮС 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. 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.

- 1.6** 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.
- 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-вортексе в течение 3–5 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 (см. 1.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

- 1.12** **Для детектирующих амплификаторов CFX96:**

Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблице 3.

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.

Т а б л и ц а 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II» и «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 ¹	...	...	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	00:15	50
4	64 √	00:20	
√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex) при 64 °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 Setting» необходимо выбрать «Baseline Subtracted Curve Fit».

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

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 °C до 25 °C не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C 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.

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

Т а б л и ц а 4 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции		Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	
Неизвестные образцы		
< 36	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Bordetella holmesii</i>
≥ 36, но ≤ 39	Не учитывается	Низкое содержание ДНК <i>Bordetella holmesii</i> , сомнительный результат*
Не указан или > 39	Указан	Не обнаружена ДНК <i>Bordetella holmesii</i>
Не указан или > 39	Не указан	Недоверенный результат
Отрицательный контрольный образец		
Не указан или > 39	Указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец		
Указан	Не учитывается	Положительный результат Результаты постановки валидны

* – полученный результат указывает на содержание ДНК *Bordetella holmesii* на уровне предела обнаружения, что может быть связано с низкой нагрузкой микроорганизма в неизвестном образце, с перекрёстной контаминацией высококопийными образцами или с ингибированием ПЦР. Результат может быть не подтверждён при повторном исследовании. Следует однократно провести повторное взятие биоматериала и/или повторное выделение ДНК и проведение ПЦР. В случае повторения результата следует выдать итоговое заключение «Обнаружена ДНК *Bordetella holmesii*».

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		