



Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2025/24371 от 07 февраля 2025 года



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов HSV1/HSV2/CMV ГерпесКомплекс в фасовке S.

Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для выявления ДНК Herpes Simplex Virus 1, Herpes Simplex Virus 2, Cytomegalovirus методом ПЦР в режиме реального времени HSV1/HSV2/CMV ГерпесКомплекс

REF R1-P211-23/9 (Фасовка S, пробирки)
R1-P211-S3/9 (Фасовка S, стрипы¹)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus 2, Cytomegalovirus в биологическом материале человека (моча, соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта) методом ПЦР в режиме реального времени.

Выделение ДНК²:

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (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 и роторного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»³, «ДТлайт»⁴ (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Био-Рад Лабораториз, Инк), Applied Biosystems QuantStudio 5, («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд»), Rotor-Gene Q (QIAGEN, GmbH).

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 ⁵	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ⁶		12 шт.	

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam/Green	Hex/Yellow/Vic	Rox/Orange	Cy5/Red	Cy5.5/Crimson
Herpes simplex virus 2 (HSV2)	БК	Cytomegalovirus (CMV)	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	-

¹ - не используется для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q

² - возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала

³ - модификация *M*

⁴ - модификация *S*

⁵ - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «K+»

⁶ - 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 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.

- 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.

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

- 1.4** Добавьте в каждую пробирку (при необходимости) по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Плотно 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 ДНК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС (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.

- 1.6** Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, 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-вортексе в течение 3-5 с (при использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).

- 1.10** Установите все пробирки/стрипы в детектирующий амплификатор и проведите ПЦР.

- 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 положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

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

- 1.12** Для детектирующих амплификаторов CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5 и Rotor-Gene Q:
Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведенным в таблицах 3, 4, 5 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	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	0:15	50
4	64 √	0:20	

√ - режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex, Rox, 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	62 √	0:20	

√ - сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex), Rox, Cy5) включен

Т а б л и ц а 5 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q (фасовка S, пробирки)

№/Cycling	Температура/ Temperature	Время/ Hold Time	Количество циклов/ Cycle Repeats
Cycling 1	80 deg	60 sec	1 time
	94 deg	90 sec	
Cycling 2	94 deg	30 sec	5 times
	62 deg √	15 sec	
Cycling 3	94 deg	10 sec	45 times
	62 deg √	15 sec	

√ - режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам детекции Green, Yellow, Orange и Red при 62 °C

¹ - допускается хранение при температуре 10 °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 6. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Если для биологического образца получены значения C_p менее 24 по каналам детекции Fam/Green, Rox/Yellow/Vic или Cy5/Red, 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 вируса простого герпеса человека 1, 2 типов (HSV 1, 2) методом полимеразной цепной реакции (ВПГ-ГЕН), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2008/03946 и Набора реагентов для выявления ДНК цитомегаловируса человека (CMV) методом полимеразной цепной реакции (ЦМВ-ГЕН), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2008/03945.

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

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam/Green, Cp/Cq/Ct	Hex/Yellow/Vic, Cp/Cq/Ct	Rox/Orange, Cp/Cq/Ct	Cy5/Red, Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК Herpes simplex virus 2
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена ДНК Cytomegalovirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена ДНК Herpes simplex virus 1
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена ДНК выявляемых микроорганизмов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец				
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец				
Указан	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 защищенном 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		