

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2024/24198 от 13 декабря 2024 годаВ данном вкладыше приведена информация для набора реагентов NTCM Комплекс в фасовке S.  
Перед началом работы изучите инструкцию.**Набор реагентов для выявления ДНК  
*Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*,  
*Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*  
методом ПЦР в режиме реального времени****NTCM Комплекс****REF** R1-P122-23/9 (Фасовка S, пробирки)  
R1-P122-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**Информация о наборе реагентов****Назначение:**Набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* в биологическом материале человека (соскобы эпителиальных клеток из уrogenитального тракта) методом ПЦР в режиме реального времени.**Выделение ДНК:**

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-МЧ-РАПИД II.

Примечание – Комплект реагентов ПРОБА-РАПИД не рекомендуется для выделения ДНК из соскобов из уrogenитального тракта у мужчин.

**Специализированное оборудование:**Детектирующие амплификаторы планшетного с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»<sup>1</sup>, «ДТлайт»<sup>2</sup> (ООО «НПО ДНК-Технология»), СФХ96 (Био-Рад Лабораториз, Инк).**Время проведения анализа (включая пробоподготовку):**

от 1,5 часов (в зависимости от количества образцов и используемого набора/комплекта реагентов для выделения ДНК).

**Количество анализируемых образцов:**

Набор реагентов рассчитан на 96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов, положительных контрольных образцов.

**Состав набора реагентов:**

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем 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>3</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов <sup>4</sup>		12 шт.	

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	БК	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

<sup>1</sup> - модификация 5M\*<sup>2</sup> - модификация 5S\*<sup>3</sup> - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»<sup>4</sup> - 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 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!

- 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.
- 1.4** Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте пробирки/стрипы.
- 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. Перед внесением в пробирки с реакционной смесью препарата ДНК и отрицательного контрольного образца 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-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ГС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС (только в случае, если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки) встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте 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 с препаратом ДНК 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 образцом. Закрывайте 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 1-3 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 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 и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

<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

- 1.12** Для детектирующего амплификатора CFX96:  
Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведенной в таблице 3 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>1</sup>	...	...	Хранение		Хранение

√ - режим оптических измерений

Т а б л и ц а 3 – 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	0:15	50
4	64 √	0:20	

√ - режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5) при 64 °С

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

Если для биологического образца получены значения Cp/Cq менее 24 на каналах детекции Fam, Rox, Cy5 или Cy5.5, 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 трихомонасы вагиналис (*Trichomonas vaginalis*) методом полимеразной цепной реакции (ТРИХО-ГЕН), РУ № ФСР 2008/03848, Набора реагентов для выявления ДНК нейссерии гонореи (*Neisseria gonorrhoeae*) методом полимеразной цепной реакции (ГОНО-ГЕН), РУ № ФСР 2008/03850, Набора реагентов для выявления ДНК хламидии трахоматис (*Chlamydia trachomatis*) методом полимеразной цепной реакции (ХЛАМИ-ГЕН), РУ № ФСР 2008/03890 и Набора реагентов для выявления ДНК микоплазмы гениталиум (*Mycoplasma genitalium*) методом полимеразной цепной реакции (ПЛАЗМОГЕН-Mr), РУ № ФСР 2008/02550.

<sup>1</sup> - допускается хранение при температуре 10 °С

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

Канал детекции					Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cp/Cq	Cy5, Cp/Cq	Cy5.5, Cp/Cq	
<b>Неизвестные образцы</b>					
<b>Указан</b>	Не учитывается	Не указан	Не указан	Не указан	<b>Обнаружена ДНК <i>Trichomonas vaginalis</i></b>
Не указан	Не учитывается	<b>Указан</b>	Не указан	Не указан	<b>Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma genitalium</i></b>
Не указан	Не учитывается	Не указан	<b>Указан</b>	Не указан	<b>Обнаружена ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i></b>
Не указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	<b>Указан</b>	<b>Обнаружена ДНК <i>Neisseria gonorrhoeae</i></b>
Не указан	<b>Указан</b>	Не указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена ДНК выявляемых микроорганизмов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
<b>Отрицательный контрольный образец</b>					
Не указан	<b>Указан</b>	Не указан	Не указан	Не указан	<b>Отрицательный результат</b> Результаты постановки валидны
<b>Положительный контрольный образец</b>					
<b>Указан</b>	Не учитывается	<b>Указан</b>	<b>Указан</b>	<b>Указан</b>	<b>Положительный результат</b> 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 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, 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