

Регистрационное удостоверение  
№ ФСР 2011/10428 от 28 декабря 2023 г.В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов TNC Комплекс в фасовке S.  
Перед началом работы изучите инструкцию.**Набор реагентов  
для выявления ДНК *Trichomonas vaginalis*,  
*Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis*  
методом ПЦР в режиме реального времени****(TNC Комплекс)****REF R1-P111-23/9 (Фасовка S, пробирки)  
R1-P111-S3/9 (Фасовка S, стрипы)****Информация о наборе реагентов****Назначение:**Набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis* в биологическом материале человека (моча, соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта) методом ПЦР в режиме реального времени.**Выделение ДНК<sup>1</sup>:**

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология»), ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД (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 типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»<sup>2</sup>, «ДТлайт»<sup>3</sup> (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Био-Рад Лабораториес, Инк), Applied Biosystems QuantStudio 5, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд).**Время проведения анализа (не включая пробоподготовку):**

от 1,5 часов (в зависимости от количества образцов).

**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 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 <sup>4</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов <sup>5</sup>		12 шт.	

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

Fam	Hex/Vic	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	ВК	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	-

<sup>1</sup> - возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала<sup>2</sup> - модификация \*М\*<sup>3</sup> - модификация \*С\*<sup>4</sup> - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»<sup>5</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-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке 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 пробирку/стрипы.
- 1.5** Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

#### ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛУС, ПРОБА-ОПТИМА встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-ГС и ПРОБА-ГС-ПЛУС встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте при RCF(g) 12000–16000 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 на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 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-вортке 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-вортке в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортке 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. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

**1.6** Внесите в соответствующие промаркированные пробирки для неизвестных образцов, 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-вортке 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 положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл. При выборе теста должна отображаться программа, приведенная в таблице 2.

**1.12** Для детектирующих амплификаторов CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5:

Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведенным в таблицах 3, 4 соответственно.

<sup>1</sup> - тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создается путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов.

Таблица 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	10	...	...	Хранение		Хранение

√ - режим оптических измерений

Таблица 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) при 64 °С

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5

Стадия	№ шага	Температура, °С	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	64 √	0:20	

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

## 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 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Если для биологического образца получены значения Ср/Сq/Сt менее 24 на каналах детекции Fam, Rox или Cy5, 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), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2008/03848, Набора реагентов для выявления ДНК нейссерии гонореи (Neisseria gonorrhoeae) методом полимеразной цепной реакции (ГОНО-ГЕН), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2008/03850 и Набора реагентов для выявления ДНК хламидии трахоматис (Chlamydia trachomatis) методом полимеразной цепной реакции (ХЛАМИ-ГЕН), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2008/03890.

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

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

### 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