



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления ДНК
Trichomonas vaginalis/Neisseria gonorrhoeae/Chlamydia trachomatis
методом ПЦР в режиме реального времени

TNC Комплекс

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления ДНК *Trichomonas vaginalis/Neisseria gonorrhoeae/* *Chlamydia trachomatis* методом ПЦР в режиме реального времени TNC Комплекс

1. НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1.** Набор реагентов TNC Комплекс предназначен для одновременного выявления ДНК безусловных патогенов *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* в биологическом материале человека (соскоб из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, моча) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.
- 1.2.** Набор может быть использован в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия набора

Принцип анализа, применённый в наборе реагентов, основан на использовании процесса амплификации (умножения) ДНК методом ПЦР. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурной денатурации ДНК, отжига праймеров (затравок) с комплементарными последовательностями и последующей достройке полинуклеотидных цепей Taq-полимеразой.

Для оценки прохождения ПЦР в смесь для амплификации добавлен внутренний контрольный образец (ВК).

В наборе предусмотрен способ детекции продуктов амплификации в режиме реального времени («Real-time»). Для детекции продуктов амплификации в смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. В случае образования специфического продукта ДНК-зонд разрушается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором (ДТ-96, ООО «НПО ДНК-

Технология»).

Использование специфических ДНК-зондов позволяет отдельно регистрировать результаты амплификации фрагментов геномов *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Chl. trachomatis* и внутреннего контрольного образца (ДНК-мишеней).

ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации фрагментов геномов *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Chl. trachomatis* и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными красителями, детектирующимися на каналах Fam, Rox, Cy5 и Hex, соответственно.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только при плавлении парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

2.2. Состав набора

Набор состоит из комплекта реагентов для выделения ДНК и комплекта реагентов для ПЦР-амплификации.

1. Комплект реагентов для выделения ДНК из биологического материала

Для выделения ДНК из биологического материала рекомендуется использовать комплекты ПРОБА-ГС или ПРОБА-НК производства ООО «НПО ДНК-Технология».

- а) **Комплект реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС** включает:
- лизирующий раствор – 1 флакон (15 мл);
 - сорбент – 2 пробирки (по 1,0 мл);
 - промывочный раствор №1 – 1 флакон (20 мл);
 - промывочный раствор №2 – 1 флакон (20 мл);
 - промывочный раствор №3 – 1 флакон (20 мл);
 - элюирующий раствор – 1 флакон (10 мл).
- б) **Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК** включает:

- лизирующий раствор – 1 флакон (30 мл);
- реагент для преципитации – 1 флакон (40 мл);
- промывочный раствор №1 – 1 флакон (50 мл);
- промывочный раствор №2 – 1 флакон (30 мл);
- буфер для растворения – 4 пробирки (по 1,25 мл);
- отрицательный контрольный образец («К-») – 2 пробирки (по 1,5 мл);
- внутренний контрольный образец (РНК–ВК)* – 1 пробирка (1,0 мл);
- внутренний контрольный образец (ДНК–ВК)* – 1 пробирка (1,0 мл).

* – поставляемые в комплекте внутренние контрольные образцы (РНК–ВК и ДНК–ВК) предназначены для использования с комплектами реагентов для амплификации ОТ–ГЕПАТОГЕН–С, ГЕНОТИП–С, ВИЧ ГЕН. Таким образом, данные компоненты не используются в комплекте ТНС Комплекс.

2. Комплект реагентов для ПЦР–амплификации ДНК *Trichomonas vaginalis/Neisseria gonorrhoeae/Chlamydia trachomatis* в режиме реального времени включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 96 пробирок (по 20 мкл) или 12 стрипов по 8 пробирок;
- раствор Таq–полимеразы МАХ – 2 пробирки (по 480 мкл);
- минеральное масло – 2 пробирки (по 1,0 мл);
- положительный контрольный образец («К+») – 1 пробирка (150 мкл).

В состав смеси для амплификации, запечатанной парафином, входят: ПЦР–буфер, дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, праймеры, флуоресцентные ДНК–зонды, внутренний контрольный образец.

2.3. Время проведения анализа – 4 ч.

2.4. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных

образцов и отрицательных контрольных образцов.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность анализа

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* или *Chl. trachomatis*, детектирующий амплификатор должен регистрировать положительный результат по соответствующему каналу детекции.

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* или *Chl. trachomatis*, детектирующий амплификатор должен регистрировать отрицательный результат по соответствующим каналам детекции.

ВНИМАНИЕ! При высокой первоначальной концентрации ДНК одного из определяемых возбудителей возможно получение ложноотрицательного результата для возбудителя, чья ДНК присутствует в низкой концентрации (см. п. 9 «Учёт результатов реакции»).

3.2. Аналитическая чувствительность на 1,0 мл образца:

2000 геном-эквивалентов ДНК *Trichomonas vaginalis* или
2000 геном-эквивалентов ДНК *Neisseria gonorrhoeae* или
2000 геном-эквивалентов ДНК *Chlamydia trachomatis*.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (ГОСТ Р 51609–2000).

4.2. Мерами предосторожности при работе с комплектом реагентов является соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.4. Работу с набором реагентов и анализируемыми образцами следует проводить в одноразовых медицинских перчатках без талька.

- 4.5.** На стадиях приготовления реакционной смеси и обработки биологических образцов необходимо использовать только новые наконечники и пробирки.
- 4.6.** Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.
- 4.7.** Выделение ДНК и приготовление реакционной смеси следует проводить в ламинарных шкафах с выключенным ламинарным потоком или ПЦР-боксах.
- 4.8.** Для предотвращения контаминации этапы выделения ДНК и ПЦР следует проводить в отдельных помещениях или тщательно изолированных зонах, снабжённых комплектами полуавтоматических пипеток, халатами и прочими принадлежностями.
- 4.9.** Всё лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.
- 4.10.** Оборудование, которое используется при работе с набором, должно быть соответствующим образом маркировано.
- 4.11.** Обработку помещений проводят в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами.
- 4.12.** Поверхности рабочих столов, а также рабочих помещений, следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ в течение 1 часа.
- 4.13.** Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.2569-09.

При работе с набором реагентов ТНС Комплекс требуются следующие оборудование и материалы:

- детектирующий амплификатор ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»);
- центрифуга со скоростью вращения ротора 13000 об/мин;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру 50 °С или 65 °С;
- микроцентрифуга/вортекс;
- холодильник бытовой;
- пробирки пластиковые объёмом 1,5 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом 0,5–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники вместимостью 1–20 мкл; 1–200 мкл; 100–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для автоматических пипеток объёмом 1–20 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские;
- физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный;
- контейнер с дезинфицирующим раствором.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Соскобы из уретры, заднего свода влагалища или цервикального канала с помощью одноразовых стерильных зондов перенести в пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл, в которые предварительно внести 300 мкл физиологического раствора стерильного, перемешать. Зонд извлечь, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Крышки пробирок плотно закрыть.

Примечание. Перед взятием соскоба из цервикального канала необходимо удалить слизь стерильным ватным тампоном.

Допускается хранение образцов при температуре 2–8 °С не более 24 ч.

6.2. Порцию (примерно 50 мл) утренней мочи следует собрать в

стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка биологического материала к выделению ДНК

7.1.1. Подготовка мочи

7.1.1.1. Взболтать содержимое флакона с мочой.

7.1.1.2. Перенести 1,5 мл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

7.1.1.3. Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

7.1.1.4. Удалить надосадочную жидкость. Если осадок клеток отсутствует, повторить пп.7.1.1.2–7.1.1.4.

7.1.1.5. Добавить к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.

7.1.1.6. Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

7.1.1.7. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция) при использовании комплекта реагентов ПРОБА–НК или 50 мкл (осадок + жидкая фракция) при использовании комплекта реагентов ПРОБА–ГС.

7.1.2. Подготовка соскобов из уретры, цервикального канала и задней стенки влагалища

7.1.2.1. Пробирку, содержащую анализируемый материал, центрифугировать при 13000 об/мин в течение 10 мин.

7.1.2.2. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция) при использовании комплекта реагентов ПРОБА–НК или 50 мкл (осадок + жидкая фракция) при использовании комплекта реагентов ПРОБА–ГС.

Полученный материал готов для выделения ДНК.

7.2. Выделение ДНК из биологического материала

7.2.1. Выделение ДНК с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК ПРОБА–ГС

Одновременно с выделением ДНК из биологического

материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец «К-». Для этого в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл внести 50 мкл физиологического раствора стерильного.

Примечание. В лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона при 50 °С в течение 15–20 мин.

- 7.2.1.1. Для обработки нескольких анализируемых образцов в отдельной пластиковой пробирке смешать:
 - 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора,
 - 20 x (N+1) мкл предварительно ресуспендированного сорбента, где
N+1 – количество анализируемых образцов с учётом «К-» (N) с запасом на 1 образец.
- 7.2.1.2. Добавить по 170 мкл полученной смеси в каждую пробирку с образцом и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.1.3. Термостатировать пробирки при 50 °С в течение 20 мин.
- 7.2.1.4. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин.
- 7.2.1.5. Удалить надосадочную жидкость.
- 7.2.1.6. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №1 и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.1.7. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин.
- 7.2.1.8. Удалить надосадочную жидкость.
- 7.2.1.9. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.1.10. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин.
- 7.2.1.11. Удалить надосадочную жидкость.
- 7.2.1.12. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.1.13. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин.

- 7.2.1.14. Удалить надосадочную жидкость.
- 7.2.1.15. Открыть крышки пробирок и термостатировать пробирки при 50 °С в течение 5 мин.
- 7.2.1.16. Добавить к осадку 100 мкл элюирующего раствора и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.1.17. Термостатировать пробирки при 50 °С в течение 5 мин.
- 7.2.1.18. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР–амплификации.

Полученный препарат ДНК можно хранить до 7 суток при температуре 2–8 °С. Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР необходимо повторить п.п.7.2.1.17 – 7.2.1.18.

- 7.2.1. Выделение ДНК с использованием комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА–НК

Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец «К-». Для этого в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл внести 100 мкл физиологического раствора стерильного.

Примечание. Перед началом работы необходимо прогреть лизирующий раствор при 65 °С в течение 10 мин для полного растворения осадка.

- 7.2.2.1. Промаркировать необходимое количество новых пробирок ёмкостью 1,5 мл с учётом пробирок для отрицательного контрольного образца – «К-». Добавить по 300 мкл лизирующего раствора в каждую пробирку с образцом и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.2.2. Плотно закрыть крышки пробирок, встряхнуть на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.2.3. Термостатировать пробирки 15 мин при 65 °С, осадить конденсат центрифугированием при 13000 об/мин в течение 30 с.
- 7.2.2.4. Добавить 400 мкл реагента для преципитации и встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.2.5. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение

15 мин.

- 7.2.2.6. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.2.2.7. Добавить к осадку 500 мкл промывочного раствора №1 и 3–5 раз аккуратно перевернуть пробирки.
- 7.2.2.8. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 5 мин.
- 7.2.2.9. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.2.2.10. Добавить к осадку 300 мкл промывочного раствора №2 и 3–5 раз аккуратно перевернуть пробирки.
- 7.2.2.11. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 5 мин.
- 7.2.2.12. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.2.2.13. Открыть крышки пробирок и высушить осадок при 65 °С в течение 5 мин.
- 7.2.2.14. Добавить к осадку 50 мкл буфера для растворения. Встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с, осадить капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с.
- 7.2.2.15. Прогреть пробирки при 65 °С в течение 10 мин. Встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.2.16. Осадить капли центрифугированием пробирок при 13000 об/мин в течение 30 с.

Препарат ДНК готов для проведения ПЦР.

Препарат ДНК можно хранить при минус 20 °С в течение одного месяца или при минус 70 °С в течение одного года.

7.3. Проведение полимеразной цепной реакции

п.п. 7.3.1–7.3.3 выполняются в зоне приготовления реакционных смесей и проведения ПЦР (МУ 1.3.2569–09).

- 7.3.1. Промаркировать необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, с учётом пробирок для положительного контрольного образца «К+» и отрицательного контрольного образца «К-

».

- 7.3.2. Добавить в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 10 мкл тщательно перемешанного раствора Таq-полимеразы МАХ.
- 7.3.3. Добавить в каждую пробирку по 1 капле минерального масла (примерно 20 мкл), закрыть крышки пробирок.
- 7.3.4. Внести в промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК (кроме пробирок «К-» и «К+»).

Примечание. Во избежание контаминации рекомендуется вносить образцы ДНК наконечниками с аэрозольным барьером.

- 7.3.5. В пробирку, промаркированную «К-», внести 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (п.7.2.), а в пробирку, промаркированную «К+», внести 5,0 мкл положительного контрольного образца («К+»).
- 7.3.6. Центрифугировать пробирки при 1000–3000 об/мин (или на микроцентрифуге/вортексе) в течение 3–5 с.
- 7.3.7. Установить пробирки в блок детектирующего амплификатора ДТ–96.
- 7.3.8. Создать тест «ТНС Комплекс» в программном обеспечении для ДТ–96 при первом проведении ПЦР или выберете уже существующий тест. Указать количество и идентификатор образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметить расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. п. 7.3.8. и провести ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Специфика «С» должна быть отмечена на каналах Fam, Rox и Cy5, а внутренний контроль «ВК» – на канале Hex (см. рис. 1).

7.4. Создание теста «TNC Комплекс» для детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»)

Параметры теста «TNC Комплекс»

1. Анализ
 Тип «Качественный»
 Метод «Геометрический (Ср)»
2. Пробирки
 «образец», «контроль+», «контроль-»
3. Контроли
 Положительный («К+») «1»
 Отрицательный («К-») «1»
4. Объём рабочей смеси в пробирке «35 мкл»
5. Флуорофоры

Fam	Hex	Rox	Cy5
С (специфика)	ВК	С (специфика)	С (специфика)

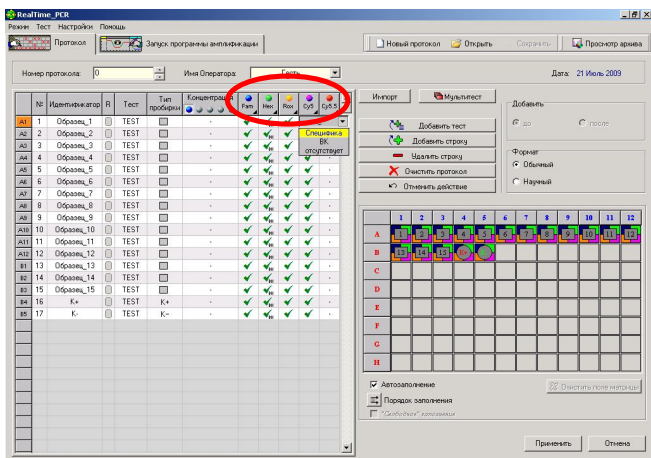
6. Программа амплификации (в соответствии с табл 1)

Таблица 1

Режим амплификации для детектирующего амплификатора ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	0	30	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15		√	
4	94,0	0	5	1		Цикл
5	10,0	Хранение		Хранение

Рисунок 1. Вкладка «Протокол» в программе «RealTime_PCR»



8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола (тип анализа «Качественный») и анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией к прибору (см. «Руководство по эксплуатации» для ДТ-96). ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации ДНК-мишеней *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Chl. trachomatis* и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными красителями, детектирующимися на каналах Fam, Rox, Cy5, и Hex, соответственно.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения («RealTime_PCR»), поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.1.1 Для анализа результатов необходимо установить следующие параметры анализа (вкладка «Анализ оптических измерений») (см. рис. 2):

Тип анализа «Ct (Cp) для всех каналов»

Метод «Геометрический (Cp)»

Открыть окно «Параметры анализа» (кнопка вызова

окна ) и установить следующие параметры:

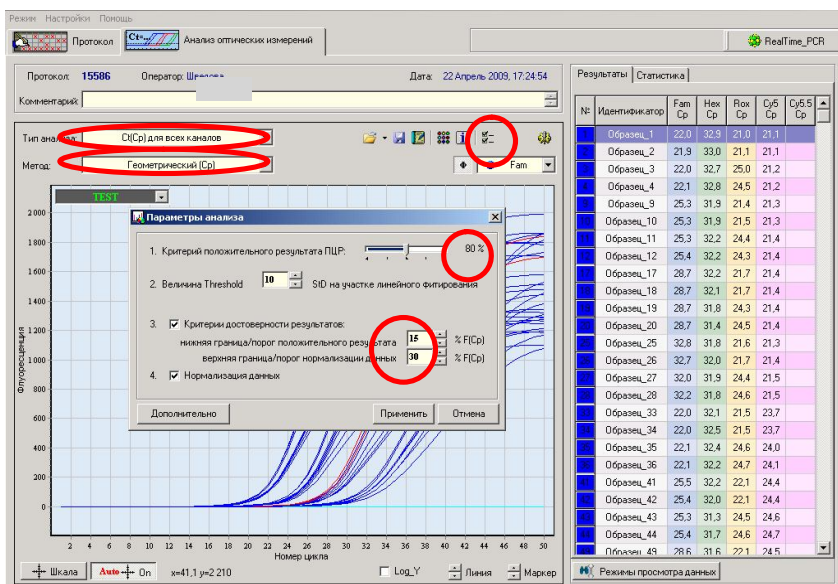
1. Критерий положительного результата ПЦР «80%».
2. Величина Threshold (не изменять).
3. Критерий достоверности результатов (установить галочку):

нижняя границы/порог положительного результата «15% F(Cp)»

верхняя границы/порог нормализации данных «30% F(Cp)».

4. Нормализация данных (установить галочку).

Рисунок 2. Параметры анализа



9.2. В биологических образцах, содержащих ДНК одного или нескольких безусловных патогенов (*T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* или *Chl. trachomatis*), детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции на соответствующих каналах (примеры результатов приведены на рис.3).

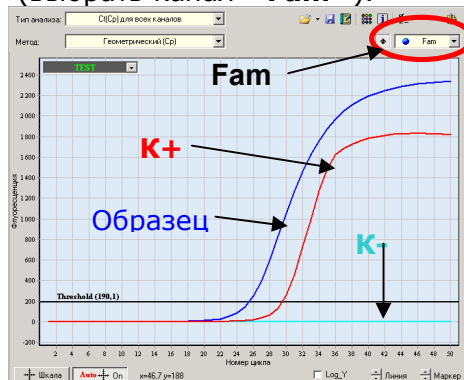
ВНИМАНИЕ! Если в препарате биологического образца регистрируется рост флуоресценции специфического продукта на каналах Fam, Rox или Sy5 раньше 24 цикла по Cp (Cp менее 24), то

это говорит о высокой первоначальной концентрации ДНК соответствующего возбудителя. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата для возбудителя, чья ДНК присутствует в низкой концентрации. В этом случае рекомендуется повторно провести ПЦР выделенного препарата с использованием комплектов реагентов для ПЦР-амплификации ДНК *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Chl. trachomatis* производства ООО «НПО ДНК-Технология».

Рисунок 3. Примеры положительных результатов амплификации:

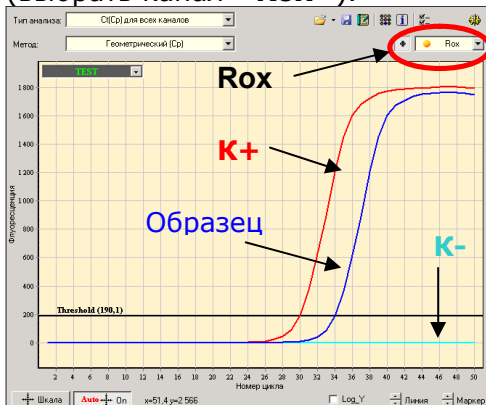
а) *T. vaginalis*

(выбрать канал «Fam»).



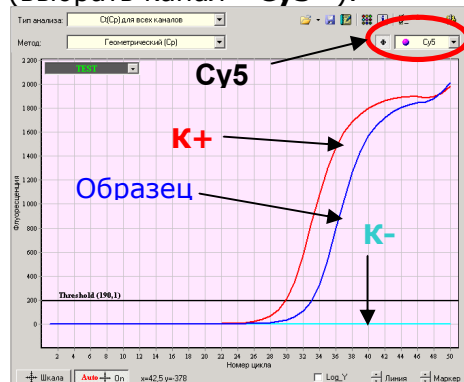
б) *N. gonorrhoeae*

(выбрать канал «Rox»).



в) *Chl. trachomatis*

(выбрать канал «Cy5»).



- 9.3.** В биологических образцах, не содержащих ДНК определяемых возбудителей, и в отрицательном контрольном образце детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Hex (внутренний контрольный образец), рост флуоресценции по каналам Fam, Rox и Cy5 отсутствует.
- 9.4.** Внутренний контрольный образец (канал Hex) определяется в биологических образцах, положительном контрольном образце и отрицательном контрольном образце. При высокой первоначальной концентрации какой-либо специфичной ДНК-мишени в биологических образцах рост уровня флуоресценции на канале Hex может не регистрироваться (рис.3).
- 9.5.** Результат оценивается программой как недостоверный (нд) в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для специфичного продукта (по каналам Fam, Rox или Cy5) и для внутреннего контрольного образца (по каналу Hex). Недостоверный результат может быть вызван присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторная постановка амплификации препарата ДНК, повторное выделение препарата ДНК, либо повторное взятие клинического материала.
- 9.6.** При отсутствии положительного результата (экспоненциального роста флуоресценции по каналам Fam, Rox или Cy5) в положительном контрольном образце результаты всей постановочной серии бракуют. При наличии положительного результата (экспоненциального роста флуоресценции по каналам Fam, Rox или Cy5) в отрицательном контрольном образце («К-»), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

- 10.1.** Срок годности набора – 6 месяцев с даты изготовления.
- 10.2.** Комплекты реагентов для выделения ДНК из биологического материала и ПЦР–амплификации ДНК следует хранить при температуре 2–8 °С в течение всего срока годности.
- 10.3.** Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения комплектов реагентов, входящих в состав набора.
- 10.4.** Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.
- 10.5.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.
- 10.6.** Предприятие–изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов ТНС Комплекс, следует обращаться в ООО «НПО ДНК–Технология» по адресу:

117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6, этаж 11

Тел./факс + 7 (495) 980-45-55

E-mail: mail@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru

ООО «НПО ДНК-Технология»
117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6, этаж 11
Тел./факс (495) 980-45-55
E-mail: mail@dna-technology.ru
www.dna-technology.ru