



Инструкция по применению набора реагентов расположена на сайте www.amplisens.ru



Краткое руководство

набор реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL

Форма 1: **REF** H-3971-1



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123, город
Москва, улица Новогиреевская, дом 3А

IVD

VER 18.12.19

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов. Анализ и интерпретацию результатов необходимо проводить в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Набор реагентов рекомендуется использовать после обнаружения ДНК *M.genitalium* в исследуемых образцах с помощью наборов реагентов производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ «ПЦР-комплекта» вариант FRT-50 F

Общий объем реакционной смеси: 25 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).

Каждый исследуемый образец исследуется в 2-х реакционных смесях.

Контроли: для каждой группы амплифицируемых образцов 2 положительных (K1, K2), 1 отрицательный (K-) контроли ПЦР.

- Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления двух реакционных смесей.
- Разморозить пробирку с **ПЦР-буфером-В** и **полимеразой (TaqF)**.
- В двух отдельных пробирках подготовить две реакционные смеси.

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь-FL Mg/ML или ПЦР-смесь-FL Mg/FQ	10*(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей; 1 – запас
ПЦР-буфер-В	5*(N+K+1)	
Полимераза (TaqF)	0,5*(N+K+1)	

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

- Отобрать необходимое (двухкратное) количество пробирок или стрипов для амплификации исследуемых и контрольных проб:

Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в каждую пробирку
Внести по 10 мкл	
Проб ДНК, экстрагированных из исследуемых образцов	в две пробирки с различными реакционными смесями для исследуемых образцов <i>При экстракции с помощью сорбционных методов избегать попадания сорбента в реакционную смесь!</i>
Для ПЦР-смеси-FL Mg/ML	
10 мкл K1 Mg/ML	в пробирку для K1
10 мкл K2 Mg/ML	в пробирку для K2
10 мкл K-	в пробирку для K-
Для ПЦР-смеси-FL Mg/FQ	
10 мкл K1 Mg/FQ	в пробирку для K1
10 мкл K2 Mg/FQ	в пробирку для K2
10 мкл K-	в пробирку для K-

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени».

Программа амплификации «АмплиСенс-1» для приборов роторного типа				
Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	95	15 мин	-	1
2	95	5 с	-	5
	60	20 с	-	
	72	15 с	-	
3	95	5 с	-	40
	60	20 с	FAM, JOE и ROX	
	72	15 с	-	

Внимание! При одновременном проведении нескольких тестов назначается детекция и по другим используемым каналам.

Настройки приборов роторного типа см. во вкладыше к набору реагентов.

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных результатов проводить автоматически, с помощью ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0. Порядок работы с ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 описан в руководстве оператора.

Наименование ПЦР-смеси-FL	Канал для флуорофора		
	FAM	JOE	ROX
Mg/ML	область V домена гена 23S rRNA (дикий тип)	-	ген <i>gyrB</i>
Mg/FQ	-	область QRDR гена <i>ParC</i> (дикий тип)	ДНК ВКО (искусственная нуклеотидная последовательность)

ВНИМАНИЕ! К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш**, в котором указаны настройки для приборов роторного типа, значения концентрации калибраторов, граничные значения *Ct* и коэффициентов F, K, d Lg(C), необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов.