



Галарт
Диагностикум

ООО НПФ «Галарт-диагностикум»
119121, Москва, 2-й Неопалимовский пер., д.3/1
Тел.: (495)988-61-68, 508-29-16
Эл. почта: lab@galartdiag.ru | www.galartdiag.ru

Мы рекомендуем Вам прочесть
эту Инструкцию, даже если Вы
использовали набор ранее.
Информация могла измениться.

GenPak® DNA PCR test

*

набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей инфекционных
заболеваний бактериальной, вирусной и другой природы
методом полимеразной цепной реакции

(ТУ 9398-001-73867468-2012)

Инструкция

Июль 2015 г.



ОГЛАВЛЕНИЕ

Назначение.....	3
Принцип метода.....	3
Аналитические характеристики.....	3
Меры предосторожности.....	4
Характеристика набора.....	4
Комплект реактивов для Универсальной пробоподготовки.....	4
Комплект реактивов для Ускоренной пробоподготовки.....	5
Комплект реактивов для Магнитной пробоподготовки.....	5
Комплект реактивов для Колоночной пробоподготовки.....	5
Комплект реактивов для постановки PCR.....	5
Комплект реактивов для гель-электрофореза PCR продукта.....	5
Материалы и оборудование.....	6
Пробоподготовка Ускоренная.....	6
Пробоподготовка Универсальная.....	7
Пробоподготовка Магнитная.....	8
Пробоподготовка Колоночная.....	9
Постановка PCR.....	10
Проведение электрофореза.....	11
Обработка результатов анализа в режиме «конечная точка».....	12
Обработка результатов анализа в режиме «реальное время».....	13
Обработка результатов анализа электрофорезной детекцией.....	13
Условия хранения и эксплуатации набора.....	14
Приложение.....	15
Таблица 3. Входные данные для программирования прибора при использовании набора реагентов GenPak® DNA PCR test в формате «электрофорезная детекция» и в режиме «конечная точка».....	15
Таблица 4. Входные данные для программирования прибора при использовании набора реагентов GenPak® DNA PCR test в режиме «реального времени».....	18



1 Назначение

- 1.1 Наборы реагентов **GenPak® DNA PCR test** предназначены для обнаружения ДНК возбудителей инфекционных заболеваний в биологических пробах человека и животных методом полимеразной цепной реакции (PCR).
- 1.2 Наборы реагентов **GenPak® DNA PCR test** могут быть использованы в клиничко-диагностической лаборатории для обнаружения ДНК бактериальной, вирусной, грибковой или другой природы.
- 1.3 Время проводимого анализа составляет около 90 мин.
- 1.4 Набор реагентов рассчитан на проведение 112 реакций, из них по 8 - положительных, отрицательных и фоновых реакций.

2 Принцип действия

- 2.1 Набор реагентов **GenPak® DNA PCR test** основан на использовании процесса амплификации ДНК методом PCR, с помощью которого можно получить *in vitro* определенную последовательность (участок) ДНК в количестве, превышающем в 10^9 раз и выше, по сравнению с количеством исходной матрицы ДНК.
- 2.2 Набор реагентов **GenPak® DNA PCR test** представляет собой лиофилизованные сухие реакционные смеси, готовые для амплификации выделенной ДНК и комплекты реагентов для выделения ДНК.
- 2.3 Выделение ДНК рекомендуется проводить несколькими способами по выбору, в зависимости от природы анализируемого биологического образца: **Ускоренной, Универсальной, Магнитной** или **Колоночной** пробоподготовками.
- 2.4 Регистрацию PCR продукта проводят методом: а) электрофореза в агарозном геле; б) детекцией амплифицированного PCR продукта в режиме «конечная точка» на флуоресцентных PCR ридерах и в) в режиме «реального времени» на специальных флуоресцентных детектирующих термоциклерах (реал-тайм термоциклерах). Детекцию целевого PCR продукта проводят в канале FAM (470-525 nm), внутреннего контроля - в канале ROX (535-605 nm). По наличию сигнала флуоресценции, превышающего пороговое значение отрицательного контроля, судят о присутствии ДНК возбудителя в анализируемом клиническом образце. Регистрацию и сохранение результатов исследования проводится с помощью управляющей программы флуоресцентного ридера или реал-тайм термоциклера.

3 Аналитические характеристики

- 3.1 Специфичность. При использовании в качестве исходного материала нативной ДНК возбудителя (положительный контрольный образец) происходит существенное повышение сигнала флуоресценции, по сравнению с пороговым значением отрицательного контроля. При использовании метода гель-электрофореза должна быть видна полоса оранжевого цвета соответствующего размера PCR продукта.
- 3.2 При использовании в качестве исходного материала отрицательного контрольного образца (бидистиллированной воды или другого растворителя ДНК) значения сигнала флуоресценции PCR продукта не превышают порогового значения отрицательного контроля, а при использовании формата гель-электрофореза полоса оранжевого цвета соответствующего размера, должна отсутствовать, а полоса, соответствующая внутреннему контролю, 90 по, должна быть отчетливо видна.



- 3.3 Аналитическая чувствительность набора составляет около 10 копий матрицы ДНК в 10 мкл анализируемого образца (от 500-1000 копий мишени в мл анализируемого образца). Диагностическая чувствительность набора составляет 99%, диагностическая специфичность набора составляет 100%.

4 Меры предосторожности

- 4.1 Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. При работе с набором и с анализируемыми биологическими образцами следует пользоваться одноразовыми медицинскими перчатками,
- 4.2 Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор. Потенциальный риск применения набора – класс 3 в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51609.
- 4.3 Для предотвращения контаминации основные виды работ, при использовании набора **GenPak® DNA-PCR test** (подготовка анализируемых проб и проведение PCR), рекомендуется физически изолировать друг от друга, т.е. размещены в разных помещениях (зонах). При работе с клиническими образцами или с выделенной для исследования ДНК следует работать с наконечниками с антиаэрозольными фильтрами.
- 4.4 При работе с набором **GenPak® DNA PCR test** в формате «конечная точка» или «реал-тайм» допускается проведение постановки PCR и детекции PCR продукта в одном помещении.
- 4.5 Постановку PCR следует проводить в ламинарном шкафу, PCR боксе или в помещении «только для постановки PCR».
- 4.6 Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда и др., а также рабочие растворы, должны быть строго стационарными, т.е. запрещается их перемещение из одного помещения в другое.
- 4.7 Перемещение персонала или перенос оборудования из комнаты для пробоподготовки в другие помещения должны проходить под строгим контролем.
- 4.8 Смена верхней одежды, головных уборов, обуви и перчаток является обязательным условием при окончании одного типа работы или при выходе из помещения для пробоподготовки.
- 4.9 Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится постановка PCR, должны обязательно облучаться 25-30 мин. ультрафиолетовым светом до начала и после окончания работ. Обработку помещений проводят в соответствии с требованиями СП 51609–2000.
- 4.10 Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с набором реагентов, должны быть соответствующим образом маркированы и должны храниться отдельно.
- 4.11 Работа с набором должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».



- 4.12 Удалять неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений» и МУ 287-113 по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

5 Характеристика набора GenPak® DNA PCR test

5.1 Комплект реактивов для **Универсальной пробоподготовки:**

- Lysis reagent (Лизирующий реагент), готов к применению - 1 флакон, 30 мл;
- Saline buffer (Солевой буфер) - 10-кратный буфер, 1 флакон, 10 мл;
- ExtraGene E™ (ЭкстраГен E, суспензия смеси гранул ионообменников), готов к применению - 1 флакон, 10 мл;
- NucleoS™ (Нуклеос, суспензия сорбента ДНК), готов к применению - 2 пробирки по 1,0 мл.

5.2 Комплект реактивов для **Ускоренной пробоподготовки:**

- ExtraGene E™ (ЭкстраГен E™, суспензия смеси гранул ионообменников), - 1 флакон, 10 мл;
- EnzyMix™ (ЭнзиМикс, протеолитический комплекс), 1 пробирка с лиофилизован. сухим содержимым.
- EnzyMix™ Diluent (Растворитель ЭнзиМикса), 1 пробирка, 100 мкл.

5.3 Комплект реактивов для **Магнитной пробоподготовки:**

- Lysis reagent (Лизирующий реагент), готов к применению - 1 флакон, 30 мл,
- Saline buffer (Солевой буфер) - 10-кратный, 1 флакон, 10 мл.
- Magnetic (Суспензия сорбента ДНК), готов к применению – 2 пробирки по 1,0 мл,
- ExtraGene TE™ (ЭкстраГен TE™, буфер для элюции ДНК с сорбента Магнетик) - 1 флакон, 10 мл;

5.4 Комплект реактивов для **Колоночной пробоподготовки:**

- Lysis reagent (Лизирующий реагент), готов к применению - 1 флакон, 30 мл,
- Saline buffer (Солевой буфер) - 10-кратный, 1 флакон, 10 мл.
- IG-Spin Columns (Микроколонки), готовы к применению – 100 шт.,
- ExtraGene™ TE (ЭкстраГен™ TE, буфер для элюции ДНК с микроколонки) - 1 флакон, 10 мл;

5.5 Комплект реактивов для постановки PCR:

- (+) Positive control (положительный контрольный образец), готов к применению – стрип из 8 пробирок с лиофилизированным сухим мастермиксом, содержащим ДНК матрицы в количестве от 10 до 100 копий - 1 стрип;
- (BL) BaseLine control (фоновый контрольный образец), готов к применению - стрип из 8 пробирок с лиофилизированным сухим мастермиксом, не содержащим ДНК матрицы и ДНК полимеразы - 1 стрип, поставляется с наборами формата «конечная точка»;
- MasterMix (МастерМикс), готов к применению - стрипы из 8 пробирок с лиофилизированным сухим мастермиксом - 12 стрипов;
- PCR Diluent (Растворитель для PCR), 1 пробирка, 1,0 мл

5.6 Комплект реактивов для гель-электрофореза PCR продукта:

- TBE buffer (буфер для электрофореза) - 1 флакон, 10 г;
- Agarose (агароза), - 1 флакон, 3г;
- BE Dye (этидиум бромид, краска), готов к применению - 1 пробирка, 150 мкл.



6 Материалы и оборудование

- 6.1 Термоциклер «GeneAmp PCR System 9700», «Veriti» («Applied Biosystems») или аналоги;
- 6.2 ПЦР-детектора «Джин 4» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология») или аналоги;
- 6.3 Реал-тайм термоциклер «StepOne PCR System» («Applied Biosystems»);
- 6.4 Реал-тайм термоциклер «CFX96» (BioRad) или аналоги;
- 6.5 Термостат для 1,5-микропробирок, поддерживающий температуру от комнатной до 100 ± 2 °C;
- 6.6 Микроцентрифуга, развивающая ускорение до 14 000 об/мин;
- 6.7 Вортекс для микропробирок;
- 6.8 Электрофоретическая камера;
- 6.9 Источник постоянного тока;
- 6.10 УФ-трансиллюминатор;
- 6.11 Колба коническая, объемом 500 мл;
- 6.12 Цилиндр мерный, объемом 500 мл;
- 6.13 Холодильник на 2-8 °C;
- 6.14 Пипетки автоматические одноканальные с фиксированным объемом 10 мкл;
- 6.15 Водоструйный или аналогичный насос;
- 6.16 Магнитный штатив для 1,5-микропробирок;
- 6.17 Микропробирки объемом 1,5 мл;
- 6.18 Наконечники для пипеток (от 10 до 200 мкл);
- 6.19 Наконечники для пипеток (от 200 до 1000 мкл);
- 6.20 Перчатки медицинские одноразовые;
- 6.21 Спирт этиловый 96%;
- 6.22 Вода дистиллированная, бидистиллированная.

7 Пробоподготовка Ускоренная

Пробоподготовка Ускоренная рекомендуется использовать при обработке образцов с малым содержанием биологического материала (слюна, моча, слеза, смыв из носоглотки, соскоб слизистой и т.д.). Для отбора пробы соскоба слизистой, мазка или смыва от слизистой используется стерильный физраствор объемом 0,5-1,0 мл и одноразовые специальные щетки или зонды. Плазма, сыворотка крови, спинномозговая жидкость и моча могут быть использованы без разбавления физраствором. Моча для анализа должна быть прозрачной без солевого осадка. В случае появления помутнения мочу рекомендуется термостатировать при 37 °C 15-20 мин. Образцы, готовые к обработке, не должны содержать мукуса (слизи). Для обработки образцов мокроты, богатых мукусом, рекомендуется использовать специальный **Муколитический реагент** (кат.№ М 2133, Лаборатория Изоген). При наличии в образце большого количества биологического материала (соскоб слизистой и т.д.), 100-500 мкл супернатанта, полученного после оседания грубого осадка, следует перенести в чистый эппендорф и использовать в пробоподготовке Ускоренной.

- 7.1 Подготовка рабочего ЭнзиМикса™. В пробирку с ЭнзиМиксом™ добавить весь объем (100 мкл) Растворителя ЭнзиМикса™ и перемешать до полного растворения сухого содержимого. Полное растворение может продлиться до 15 мин. Далее готовый ЭнзиМикс™ хранить при минус 20 °C в течение года.
- 7.2 Подготовка рабочего ЭкстраГена Е™. В пробирку с 1,0 мл ЭкстраГена Е™ добавить 10 мкл ЭнзиМикса™, перемешать и перенести в холодильник до использования. Готовый рабочий ЭкстраГен Е™ можно хранить при 2-8 °C в течение недели. При необходимости можно приготовить аналогичным образом рабочий ЭкстраГен™ нужного объема, соблюдая объемные соотношения компонентов.
- 7.3 Центрифугировать анализируемые пробы (суспензия биологического материала в физрастворе объемом до 1,0 мл) 2 мин при 10 000 об/мин для сбора клеточного материала.
- 7.4 Осторожно, не задевая еле заметный осадок, удалить супернатант, используя водоструйный насос.



- 7.5 Добавить к осадку от 50 до 200 мкл готового ЭкстраГена Е™, в зависимости от объема полученного осадка, и суспендировать осадок на вортексе.

** Внимание! ЭкстраГен Е™ следует отбирать от общего объема при постоянном перемешивании!*

- 7.6 Термостатировать пробирки при 56 °С 30 мин, а затем 10 мин при 100 °С.
- 7.7 Центрифугировать пробирки 10-15 с при 10 000 об/мин. для сбора конденсата и осаждения несолубилизованного дебриса. Для постановки реакции использовать 10 мкл прозрачного, без гранул ЭкстраГена Е™, супернатанта. При попадании гранул ЭкстраГена Е™ в реакционную пробирку происходит ингибирование реакции и приводит к появлению ложноотрицательных результатов.

8 Пробоподготовка Универсальная

Пробоподготовка Универсальная рекомендуется использовать при выделении чистой ДНК из биологических жидкостей и тканей, с высоким содержанием ДНК (крови, гомогената ткани, клеточной суспензии, соскоба слизистой и т.д.).

- 8.1 Приготовление рабочего раствора Солевого буфера. 10 мл 10-кратного Солевого буфера смешать с 200 мл 70% этилового спирта и перемешать. Готовый рабочий раствор Солевого буфера следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 2-8 °С.
- 8.2 В 1,5 мл пробирку добавить 100 мкл образца (кровь, плазма, сыворотка, соскоб слизистой в физрастворе, моча и др.), добавить 300 мкл Лизирующего реагента и перемешать, переворачивая пробирку.
- 8.3 Термостатировать пробирку при 65 °С 5 мин. При наличии несолубилизованного осадка в пробирке центрифугировать 5-10 с при 5 000 об/мин, супернатант перенести в чистую пробирку, а осадок -отбросить.
- 8.4 Добавить в пробирку 20 мкл суспензии сорбента Нуклеос (перед использованием Нуклеос следует интенсивно встряхнуть на вортексе до полного гомогенного состояния).
- 8.5 Перемешать пробирку на ротаторе или вручную 5 мин, центрифугировать 10 с при 5 000 об/мин и удалить супернатант с помощью водоструйного или аналогичного насоса. Если выделение ДНК проводится из цельной крови или гомогенатов тканей с высоким содержанием гемоглобина, осадок сорбента после центрифугирования и удаления супернатанта следует промыть еще 300 мкл Лизирующего реагента. Далее по протоколу.
- 8.6 Добавить в пробирку 1,0 мл Солевого буфера (см. п. 8.1) и интенсивно перемешать.
- 8.7 Центрифугировать 10 с при 5 000 об/мин.
- 8.8 Удалить осторожно супернатант, не задевая осадок, с помощью насоса.
- 8.9 К осадку добавить 1,0 мл Солевого буфера, тщательно перемешать на вортексе 5-10 с до полного гомогенного состояния.

** Примечание: Если суспендирование затруднено из-за сильного слипания сорбента, то его необходимо вначале механически разбить осторожным перемешиванием наконечником пипетки, а затем - интенсивно на вортексе.*

- 8.10 Центрифугировать пробирку 10 с при 10 000 об/мин.



- 8.11 Удалить супернатант, не задевая осадок, с помощью насоса.
- 8.12 Посушить осадок при 65 °С 3-5 мин.
- 8.13 Добавить в пробирку 50-100 мкл исходного ЭкстраГена E™.

** Внимание! ЭкстраГен E™ следует отбирать от общего объема после перемешивания.*

- 8.14 Суспендировать содержимое пробирки на вортексе 5-10 с до гомогенного состояния, после чего термостатировать 5 мин при 65 °С. Еще раз суспендировать содержимое пробирки на вортексе перед центрифугированием.
- 8.15 Центрифугировать пробирку 1 мин при максимальных оборотах (10 000 об/мин).
- 8.16 Перенести чистый супернатант с ДНК (без гранул ЭкстраГена E™ и Нуклеос) в пробирку для хранения или сразу использовать для постановки PCR. При попадании гранул ЭкстраГена E™ в реакционную пробирку происходит ингибирование реакции, что приводит к появлению ложноотрицательных результатов. Хранить при температуре минус 20 °С.

9 Пробоподготовка Магнитная

Магнитная пробоподготовка рекомендуется при выделении чистой ДНК из различных биологических образцов с высоким содержанием ДНК (крови, гомогената ткани, клеточной суспензии, соскоба слизистой и т.д.) при масштабированной пробоподготовке. Комплект Магнитной пробоподготовки может быть адаптирован под роботизированные станции для выделения ДНК.

- 9.1 Приготовление рабочего раствора Солевого буфера. 10 мл 10-кратного Солевого буфера смешать с 200 мл 70% этилового спирта и перемешать. Готовый рабочий раствор Солевого буфера следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 2-8 °С.
- 9.2 В пробирку объемом 1,5 мл внести 100 мкл исследуемой жидкости, добавить 300 мкл Лизирующего реагента и 20 мкл суспензии сорбента Магнетик (перед использованием Магнетик следует интенсивно перемешать на вортексе до гомогенной суспензии).
- 9.3 Пробирку поместить на ротатор или перемешивать вручную 3-5 мин.
- 9.4 Установить пробирку в магнитный штатив на 15-20 с. Осторожно, не задевая осевший на стенку сорбент Магнетик, удалить прозрачный супернатант с помощью насоса или пипетки. Если выделение ДНК проводится из цельной крови или гомогенатов тканей с высоким содержанием гемоглобина, осадок сорбента после разделения на магнитном штативе и удаления супернатанта следует промыть еще раз 300 мкл Лизирующего реагента. Далее по протоколу.
- 9.5 Добавить в пробирку 1,0 мл рабочего раствора Солевого буфера (см. п. 9.1) и не вынимая из магнитного штатива, перемешать содержимое пробирки, поворачивая её вокруг своей оси на 180 градусов или произвести перемешивание содержимого пробирки на вортексе.
- 9.6 Через 15-20 с. осторожно удалить прозрачную часть смеси.
- 9.7 Повторить операции 9.5. и 9.6.
- 9.8 Посушить осадок при температуре 65 °С в течение 2-3 мин.
- 9.9 Добавить в пробирку не менее 100 мкл ЭкстраГена TE™.



- 9.10 Суспендировать содержимое пробирки, поворачивая её вокруг своей оси на 180 градусов или произвести перемешивание содержимого пробирки на вихре.
- 9.11 Термостатировать пробирку 3-5 мин при 65 °С.
- 9.12 Еще раз суспендировать содержимое пробирки, повторив операцию 9.10.
- 9.13 Через 15-20 с. после разделения перенести супернатант с ДНК в чистую пробирку.
- 9.14 Выделенную ДНК хранить при температуре минус 20 °С.

10 Пробоподготовка Колоночная

Пробоподготовка Колоночная рекомендуется использовать при выделении чистой ДНК из биологических жидкостей и тканей, с высоким содержанием ДНК (крови, гомогената ткани, клеточной суспензии, соскоба слизистой и т.д.) при масштабированной пробоподготовке.

- 10.1 Приготовление рабочего раствора Солевого буфера. 10 мл 10-кратного Солевого буфера смешать с 200 мл 70% этилового спирта и перемешать. Готовый рабочий раствор Солевого буфера следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 2-8 °С.
- 10.2 Расставить нужное количество микроколонок вместе с пробирками-приемниками в штатив.
- 10.3 В 1,5 мл пробирку со 100 мкл анализируемого образца (кровь, плазма, сыворотка, соскоб слизистой в физрастворе, моча и др.), добавить 300 мкл Лизирующего реагента и перемешать, переворачивая пробирку.
- 10.4 При наличии несолюбилизированного материала следует термостатировать пробирку при 65 °С 5 мин., а затем центрифугировать 5-10 с при 5 000 об/мин. Прозрачный супернатант использовать для выделения ДНК, а осадок – отбросить.
- 10.5 Добавить содержимое пробирки (супернатант) в микроколону и центрифугировать ее вместе с пробиркой-приемником при 3 000 об/мин 3 мин. Если выделение ДНК проводится из цельной крови или гомогенатов тканей с высоким содержанием гемоглобина, следует отмыть дополнительно микроколону 300 мкл Лизирующего реагента. Фильтрат отбросить.
- 10.6 Добавить в микроколону 1 мл Солевого буфера (см. положение 10.1) и центрифугировать 1 мин. при 10 000 об/мин. Фильтрат отбросить.
- 10.7 Повторить операцию 10.6. Далее центрифугировать микроколону 3 мин при максимальных оборотах (14 000 об/мин). Колоночки не должны содержать остатков этанола. Допускается подсушивание микроколонок при 65 °С не более 3 мин.
- 10.8 Добавить в микроколону на мембрану 50-100 мкл ЭкстраГена ТЕ™.
- 10.9 Перенести микроколону в чистую пробирку-приемник.
- 10.10 Центрифугировать микроколону с пробиркой-приемником 1 мин при максимальных оборотах (14 000 об/мин).
- 10.11 Фильтрат, содержащий ДНК, использовать для исследований. Хранить при температуре минус 20 °С.



11 Постановка PCR.

- 11.1 Достать нужное количество стрипов (пробирок) МастерМикса для анализа образцов и постановки (-) отрицательного контроля, а также положительного (+) контроля и 2 пробирки (BL) фонового контроля. Промаркировать соответствующим образом отобранные пробирки. Фоновые пробирки (BL) используются при необходимости.
- 11.2 Добавить во все пробирки по 10 мкл ПЦР Растворителя в следующей последовательности: пробирки МастерМикса, (BL), (-) и (+) контроли. Сбросить использованный наконечник с пипетки.
- 11.3 Добавить в пробирки МастерМикса для анализа образцов по 10 мкл выделенной ДНК.
- 11.4 Добавить в пробирки (BL), (-) и (+) контролей по 10 мкл бидистиллированной воды. Растворение содержимого пробирки не обязательно.

** Внимание! Для предотвращения контаминации следует строго соблюдать последовательность внесения образцов: сначала в анализируемые образцы, затем в (BL) и (-) контроли и в самом конце в (+) контроль. Обязательно следует сбрасывать использованный наконечник. При работе с анализируемыми образцами рекомендуется использовать специальные наконечники с антиаэрозольными фильтрами.*

- 11.5 Программа амплификации в термоциклерах «GeneAmp PCR System 9700», «Veriti» или других аналогах при использовании наборов с детекцией в формате «электрофорез» и в режиме «конечная точка»:

Таблица 1

программа	«9600»	«MAX»
1	1 мин 95 °C 1 цикл	1 мин 95 °C 1 цикл
2	40 с 95 °C 40 с 60 °C 40 с 70 °C 45 циклов	30 с 95 °C 30 с 60 °C 30 с 70 °C 45 циклов
3	1 мин 70 °C 1 цикл	1 мин 70 °C 1 цикл
4	хранение	хранение

- 11.6 После окончания амплификации провести детекцию PCR продукта. Флуоресцентная детекция продуктов PCR-амплификации в режиме «конечная точка» проводится в соответствии с прилагаемой к прибору инструкцией.

** Примечание: Допускается многократное использование пробирок (BL) фонового контроля, прошедших один раз термоциклирование, при детекции следующих партий образцов. Для этого пробирки (BL) контроля следует хранить в защищенном от света холодильнике при температуре от 2 до 8 °C не более одного месяца. Многократное использование пробирок (BL) контроля допускается при условии работы с наборами реагентов одной и той же серии. Не рекомендуется переносить процедуру детекции PCR продукта и хранить пробирки после PCR более чем 24 часов.*

- 11.7 Программа амплификации на термоциклерах «StepOne PCR System», «CFX96» (BioRad) или других аналогах при использовании наборов GenPak® DNA PCR test с детекцией в «режиме реального времени»:

Таблица 2

программа	активное регулирование
1	1 мин 95 °C 1 цикл
2	30 с 95 °C 30 с 50 °C (чтение плашки) 30 сек 70 °C 45 циклов
3	1 мин 70 °C
4	хранение



12 Проведение электрофореза

12.1 Приготовление рабочего раствора буфера для электрофореза (ТВЕ):

В мерную колбу (цилиндр) на 1000 мл внести содержимое флакона с буфером для электрофореза (ТВЕ), довести до метки дистиллированной водой и перемешать до полного растворения порошка. ТВЕ буфер используется также и для приготовления агарозного геля. Готовый ТВЕ буфер может храниться при комнатной температуре в течение 2 месяцев.

12.2 Приготовление агарозного геля. В коническую колбу на 500 мл внести содержимое флакона с агарозой, добавить 200 мл готового ТВЕ буфера и поместить колбу на электрическую плитку. Довести содержимое колбы до кипения и после того, как агароза полностью расплавится, колбу с агарозой снять с плитки. Готовая агароза должна быть прозрачной и не должна содержать нерасплавленных частиц.

12.3 Подготовка электрофоретической камеры к заливке агарозного геля. Установить крышку с ванночкой на камеру, а платформу для заливки геля поместить в ванночку. Установить гребенку на платформу.

12.4 Расплавленную агарозу охладить приблизительно до 50 °С в теплой воде или на столе при комнатной температуре. Затем в колбу с готовой агарозой внести 15 мкл этидиума бромид и осторожно перемешать содержимое колбы равномерными вращательными движениями.

12.5 Агарозу налить на платформу. Толщина слоя агарозы должна быть около 4 мм.

12.6 После застывания агарозы (примерно через 20-25 мин) осторожно, чтобы не порвать карманы, вынуть гребенку, а платформу с застывшим агарозным гелем перенести из ванночки в электрофоретическую камеру.

12.7 Добавить ТВЕ буфер в электрофоретическую камеру так, чтобы буфер покрывал агарозный гель слоем приблизительно 2-3 мм.

12.8 Отобрать 10 мкл продукта амплификации добавить в соответствующую лунку агарозного геля, осторожно, чтобы предотвратить перетекание из одного кармана в другой.

12.9 Установить крышку на камеру, подключить электрофоретическую камеру к источнику питания и установить на источнике питания напряжение 100-200 В (не более 15 В/см).

12.10 Через 20 - 30 мин (примерно 0,5 см прогона синей краски) электрофоретическую камеру отключить от источника питания, отсоединить провода от камеры, снять крышку с электрофоретической камеры.

12.11 Вынуть платформу с агарозным гелем из электрофоретической камеры, дать буферу стечь с геля и осторожно промыть агарозный гель водой.

12.12 Осторожно перенести гель на экран УФ трансиллюминатора.

12.13 Надеть защитную маску или установить защитный экран, включить трансиллюминатор и проанализировать полученные результаты.



13 Обработка результатов анализа в режиме «конечная точка»

13.1 Результаты анализа должны быть приняты:

- а) при наличии превышающего порогового значения сигнала внутреннего контроля от положительного, отрицательного контрольных образцов и от анализируемых образцов. Это является доказательством прохождения PCR без ингибирующего влияния посторонних примесей (Таблица 3).
- б) при наличии превышающего порогового значения сигнала отрицательного контроля от положительного контрольного образца. Это означает, что PCR прошла в оптимальных условиях термоциклирования и используемые PCR мастермиксы соответствуют заявленному качеству.
- в) при наличии не превышающего порогового значения сигнала отрицательного контроля от отрицательного контрольного образца. Это означает, что контаминации нет (Таблица 3).

13.2 Результаты анализа должны быть отменены:

- а) при отсутствии достигающих пороговых значений сигнала флуоресценции внутреннего контроля от положительного, отрицательного контрольных образцов и от анализируемых образцов. Это указывает на наличие ингибирования PCR или на несоответствие текущих условий термоциклирования требуемым значениям.
- б) при отсутствии превышающего порогового значения сигнала флуоресценции отрицательного контроля от положительного контроля. Это означает, что реакция не прошла, и условия термоциклирования не соответствуют требуемым значениям.
- в) при наличии превышающего порогового значения сигнала отрицательного контроля от отрицательного контрольного образца. Это результат контаминации.
- г) при сильном расхождении значений сигнала флуоресценции между двумя дублирующими фоновыми образцами.

13.3 Положительными считаются исследуемые образцы, у которых значения сигнала флуоресценции превышают пороговые значения отрицательного контрольного образца и пороговые значения внутреннего контрольного образца (Таблица 3).

13.4 Отрицательными считаются исследуемые образцы, у которых значения сигнала флуоресценции не превышают пороговые значения отрицательного контрольного образца, но превышают пороговые значения внутреннего контрольного образца (Таблица 3).



14 Обработка результатов анализа в режиме «реального времени»

- 14.1 Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналам для регистрации накопления продуктов амплификации исследуемой ДНК и по каналу для регистрации продукта амплификации ДНК внутреннего контроля. Для анализа результатов по каждому каналу, необходимо установить на соответствующем уровне пороговую линию и включить необходимые опции обработки данных в соответствии с инструкциями для используемого прибора и набора реагентов **GenPak® DNA PCR test**. (Таблица 4).
- 14.2 Анализ PCR продукта в реальном времени производится на основе кривых накопления флуоресцентного сигнала следующим образом:
- а) **Вычитание базовой линии (Baseline)**. Позволяет вычесть из сигнала фон в предположении, что для всей кривой он представляет прямую линию. Проводится программой на основании заданных пользователем параметров.
 - б) **Вычитание фоновой пробирки** (если такая функция есть в программе). Позволяет провести более точное вычитание фона с учетом его нелинейности, а также избавиться от некоторых артефактов на кривых накопления фонового сигнала. Проводится программой автоматически; иногда пользователь должен активировать данную функцию.
 - в) **Выставление пороговой линии (Threshold)**. Некоторые программы имеют часть установок по умолчанию или алгоритмы автоматического выставления пороговой линии.
 - г) Программа автоматически рассчитывает для каждой обработанной кривой накопления фонового сигнала **цикл пересечения с пороговой линией (Ct)**. Эта величина численно характеризует протекание реакции и на ее основе идет дальнейший анализ и интерпретация результата.
 - д) При **качественном анализе данных** значение цикла пересечения с пороговой линией (**Ct**) сопоставляется со значением конечного цикла (**KЦ**), определяемого производителем набора.
 - е) В случае, когда кривая фонового сигнала не пересекает пороговую линию, или точка пересечения находится после конечного цикла, считается, что реакция не прошла.

15 Обработка результатов анализа электрофорезной детекции.

- 15.1 В образце из пробирки, маркированной (+), должна быть видна специфическая полоса ДНК оранжевого цвета определенного размера (табл. 3) и соответствующая внутреннему контролю вторая полоса размером 90 пн (Таблица 3).
- 15.2 В образце из пробирки, маркированной (-), специфическая полоса ДНК определенного размера должна отсутствовать, а полоса внутреннего контроля размером 90 пн должна быть отчетливо видна.
- 15.3 В образцах из пробирок, маркированных для анализируемых проб, наличие полосы на уровне полосы положительного контрольного образца свидетельствует о положительной реакции образца на исследуемую ДНК. Полоса внутреннего контроля размером 90 пн также должна быть видна (Таблица 3).



15.4 Результаты анализа должны быть отменены:

- а) в случае наличия полосы в отрицательном контрольном образце на уровне полосы положительного контроля (результат контаминации),
- б) при отсутствии полосы внутреннего контроля размером 90 пн в анализируемых пробах и контролях (свидетельство наличия ингибирования PCR).

15.5 Наличие слабых полос выше или ниже полосы положительного контрольного образца может быть результатом неспецифической амплификации, которые не должны быть приняты во внимание.

16 Условия транспортировки хранения и эксплуатации набора

- 16.1 Все компоненты набора реагентов **GenPak® DNA PCR test** можно транспортировать при температуре окружающей среды, от минус 20 до 30 °С.
- 16.2 Все компоненты набора реагентов следует хранить при комнатной температуре, 15-25 °С, в темном сухом помещении течение 1 года со дня выпуска.
- 16.3 Готовый рабочий раствор протеолитического комплекса ЭнзиМикса™ после разведения следует хранить при минус 20 °С в течение 1 года со дня разведения.
- 16.4 Готовый рабочий раствор Солевого буфера после разведения следует хранить в герметично закрытой посуде при 2-8 °С в течение 1 года со дня разведения.
- 16.5 Для получения воспроизводимых результатов и поддержания чувствительности набора необходимо точное соблюдение объемов, по 10 мкл, добавляемых PCR Растворителя и исследуемой ДНК.



17 Приложение

Таблица 3

Входные данные для программирования прибора при использовании набора реагентов GenPak® DNA PCR test в форматах «электрофорезная детекция» и «конечная точка»

Название теста	Каталожные №№	Краткое название	t° отж.	PCR продукт, по	Пороговые значения		
					-	+	ВК
<i>Chlamydia trachomatis</i>	C 2011/5011	Ctr	60 °C	410	4.00	5,00	10,00
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	C 2012/5012	Cpn.	60 °C	448	4.00	5,00	10,00
<i>Chlamydia psittaci</i>	C 2013/5013	Cps.	60 °C	356	4.00	5,00	10,00
<i>Chlamydia spp.</i>	C 2014/5014	Chl.	60 °C	560	4.00	5,00	10,00
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	M 2015/5015	Mtu.	60 °C	222	4.00	5,00	10,00
<i>Mycobacterium avium, subspp paratubercul.</i>	M 2016/5016	Mav	60 °C	268	4.00	5,00	10,00
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	M 2026/5026	Min	60 °C	234	4.00	5,00	10,00
<i>Mycobacterium tuberculosis+bovis</i>	M 2115/5115	M(tu+bo)	60 °C	211	4.00	5,00	10,00
<i>Plasmodium falciparum</i>	P 2120/5120	Pfa	60 °C	319	4.00	5,00	10,00
<i>Plasmodium vivax</i>	P 2121/5121	Pvi	60 °C	310	4.00	5,00	10,00
<i>Plasmodium ovale</i>	P 2122/5122	Pov	60 °C	312	4.00	5,00	10,00
<i>Plasmodium malariae</i>	P 2123/5123	Pma	60 °C	307	4.00	5,00	10,00
<i>Plasmodium spp. (Pfa+Pvi+Pov+Pma)</i>	P 2124/5124	Pla	60 °C	319	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M 2017/5017	Mpn.	60 °C	316	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma hominis</i>	M 2018/5018	Mho.	60 °C	282	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma genitalium</i>	M 2019/5019	Mge	60 °C	538	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma fermentans</i>	M 2029/5029	Mfe	60 °C	700	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma penetrans</i>	M 2076/5076	Mpe	60 °C	318	4.00	5,00	10,00
<i>Mycoplasma spp. (Mge+Mho+Mpn+Mfe+Mpe)</i>	M 2091/5091	Myc	60 °C	316	4.00	5,00	10,00
<i>Legionella pneumophila</i>	L 2058/5058	Lpn	60 °C	511	4.00	5,00	10,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K 2077/5077	Kpn	60 °C	541	4.00	5,00	10,00
<i>Haemophilus influenzae</i>	H 2059/5059	Hin	60 °C	381	4.00	5,00	10,00
<i>Moraxella catarrhalis</i>	M 2050/5050	Mca	60 °C	550	4.00	5,00	10,00
<i>Bordetella pertussis</i>	B 2027/5027	Bpe	60 °C	279	4.00	5,00	10,00
<i>Bordetella parapertussis</i>	B 2147/5147	Bppe	60 °C	132	4.00	5,00	10,00
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	N 2020/5020	Ngo	60 °C	591	4.00	5,00	10,00
<i>Streptococcus agalactiae</i>	S 2033/5033	Sag.	60 °C	264	4.00	5,00	10,00
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	S 2034/5034	Spn	60 °C	567	4.00	5,00	10,00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S 2103/5103	Spy	60 °C	109	4.00	5,00	10,00
<i>Helicobacter pylori (ure)</i>	H 2023/5023	Hpy (ure)	60 °C	318	4.00	5,00	10,00
<i>Helicobacter pylori (vacA)</i>	H 2024/5024	Hpy (vacA)	60 °C	565	4.00	5,00	10,00
<i>Helicobacter pylori (cagA)</i>	H 2025/5025	Hpy (cagA)	60 °C	682	4.00	5,00	10,00
<i>Listeria monocytogenes</i>	L 2032/5032	Lmo	60 °C	226	4.00	5,00	10,00
<i>Listeria spp.</i>	L 2116/5116	Lis	60 °C	429	4.00	5,00	10,00
<i>Ureaplasma (parvum+ urealytic.)</i>	U 2037/5037	Ure.	60 °C	554	4.00	5,00	10,00
<i>Ureaplasma parvum, biovar 1</i>	U 2038/5038	Upa.	60 °C	319	4.00	5,00	10,00
<i>Ureaplasma urealyticum, biovar2</i>	U 2039/5039	Uur.	60 °C	309	4.00	5,00	10,00
<i>Gardnerella vaginalis</i>	G 2030/5030	Gva.	60 °C	424	4.00	5,00	10,00
<i>Escherichia coli, CFT07, uropathogenic</i>	E 2118/5118	Eco	60 °C	606	4.00	5,00	10,00
<i>Mobiluncus curtisii</i>	M 2084/5084	Mcu	60 °C	224	4.00	5,00	10,00
<i>Morganella morganii</i>	M 2105/5105	Mmo	60 °C	356	4.00	5,00	10,00
<i>Bacteroides fragilis</i>	B 2085/5085	Bfr	60 °C	535	4.00	5,00	10,00
<i>Proteus mirabilis</i>	P 2086/5086	Pmi	60 °C	448	4.00	5,00	10,00
<i>Prevotella bivia</i>	P 2106/5106	Pbi	60 °C	279	4.00	5,00	10,00



<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P 2107/5107	Pae	60 °C	254	4.00	5.00	10.00
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	P 2108/5108	Pan	60 °C	396	4.00	5.00	10.00
<i>Leptospira interrogans</i>	L 2031/5031	Lin.	60 °C	668	4.00	5.00	10.00
<i>Leptospira spp. (pathogenic serovars)</i>	L 2137/5137	Lep.	60 °C	423	4.00	5.00	10.00
<i>Treponema pallidum</i>	T 2035/5035	Tpa.	60 °C	325	4.00	5.00	10.00
<i>Borrelia burgdorferi</i>	B 2042/5042	Bbu	60 °C	445	4.00	5.00	10.00
<i>Borrelia garinii</i>	B 2089/5089	Bga	60 °C	445	4.00	5.00	10.00
<i>Borrelia afzelii</i>	B 2090/5090	Baf	60 °C	445	4.00	5.00	10.00
<i>Borrelia spp. (burgdorferi+garinii+afzelii)</i>	B 2110/5110	Bor	60 °C	445	4.00	5.00	10.00
<i>Babesia divergens</i>	B 2126/5126	Bdi	60 °C	359	4.00	5.00	10.00
<i>Babesia canis</i>	B 2127/5127	Bca	60 °C	359	4.00	5.00	10.00
<i>Babesia equi</i>	B 2128/5128	Beq	60 °C	362	4.00	5.00	10.00
<i>Babesia microti</i>	B 2129/5129	Bmi	60 °C	362	4.00	5.00	10.00
<i>Babesia spp.</i>	B 2130/5130	Bab	60 °C	359	4.00	5.00	10.00
<i>Toxoplasma gondii</i>	T 2021/5021	Tgo	60 °C	523	4.00	5.00	10.00
<i>Lactobacillus spp.</i>	L 2088/5088	Lac	60 °C	239	4.00	5.00	10.00
<i>Trichomonas vaginalis</i>	T 2036/5036	Tva.	60 °C	771	4.00	5.00	10.00
<i>Candida albicans</i>	C 2040/5040	Cal	60 °C	490	4.00	5.00	10.00
<i>Candida glabrata</i>	C 2109/5109	Cgl	60 °C	295	4.00	5.00	10.00
<i>Aspergillus fumigatus</i>	A 2041/5041	Afu	60 °C	456	4.00	5.00	10.00
<i>Pneumocystis carinii</i>	P 2022/5022	Pca.	60 °C	396	4.00	5.00	10.00
<i>Cryptococcus neoformans</i>	C 2078/5078	Cne	60 °C	307	4.00	5.00	10.00
<i>Clostridium difficile</i>	C 2028/5028	Cdi	60 °C	517	4.00	5.00	10.00
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Y 2047/5047	Yen	60 °C	373	4.00	5.00	10.00
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Y 2111/5111	Yps	60 °C	272	4.00	5.00	10.00
<i>Yersinia pestis</i>	Y 2117/5117	Ype	60 °C	351	4.00	5.00	10.00
<i>Bacillus anthracis</i>	B 2125/5125	Ban	60 °C	320	4.00	5.00	10.00
<i>Enterococcus faecalis</i>	E 2079/5079	Efal	60 °C	499	4.00	5.00	10.00
<i>Enterococcus faecium</i>	E 2080/5080	Efam	60 °C	541	4.00	5.00	10.00
<i>Cryptosporidium parvum</i>	C 2081/5081	Cpa	60 °C	475	4.00	5.00	10.00
<i>Campylobacter jejuni</i>	C 2082/5082	Cje	60 °C	364	4.00	5.00	10.00
<i>Entamoeba histolytica</i>	E 2113/5113	Ehi	60 °C	887	4.00	5.00	10.00
<i>Giardia lamblia</i>	G 2083/5083	Gla	60 °C	318	4.00	5.00	10.00
<i>Ehrlichia spp.</i>	E 2048/5048	Ehr	60 °C	337	4.00	5.00	10.00
<i>Ehrlichia murris/Yamaguchi</i>	E 2138/5138	Emu	60 °C	223	4.00	5.00	10.00
<i>Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum</i>	E 2136/5136	Eph	60 °C	227	4.00	5.00	10.00
<i>Rickettsia spp.</i>	R 2104/5104	Ric	60 °C	259	4.00	5.00	10.00
<i>Brucella melitensis.</i>	B 2043/5043	Bme.	60 °C	442	4.00	5.00	10.00
<i>Francisella tularensis, spp</i>	F 2044/5044	Fra	60 °C	333	4.00	5.00	10.00
<i>Francisella tularensis, tularensis</i>	F 2141/5141	Ftu	60 °C	376	4.00	5.00	10.00
<i>Francisella tularensis, holarctica</i>	F 2142/5142	Fho	60 °C	362	4.00	5.00	10.00
<i>Vibrio cholerae (tox R)</i>	V 2045/5045	Vcho (toxR)	60 °C	624	4.00	5.00	10.00
<i>Vibrio cholerae (omp W)</i>	V 2046/5046	Vcho(ompW)	60 °C	441	4.00	5.00	10.00
<i>Tetracycline resistance gene, tetM</i>	T 2092/5092	tetM	60 °C	430	4.00	5.00	10.00
<i>Tetracycline resistance gene, tetQ</i>	T 2093/5093	tetQ	60 °C	392	4.00	5.00	10.00
<i>Erythromycin resistance gene, ermF</i>	E 2094/5094	ermF	60 °C	492	4.00	5.00	10.00
<i>Hepatitis B virus</i>	B 2049/5049	HBV	60 °C	473	4.00	5.00	10.00
<i>Transfusion transmit.virus.general</i>	T 2050/5050	TTVgen.	60 °C	276	4.00	5.00	10.00
<i>Parvovirus B19</i>	B 2052/5052	PV B19	60 °C	743	4.00	5.00	10.00
<i>Herpes simplex virus 1 type</i>	H 2054/5054	HSV 1	60 °C	331	4.00	5.00	10.00
<i>Herpes simplex virus 2 type</i>	H 2055/5055	HSV 2	60 °C	432	4.00	5.00	10.00



<i>Herpes simplex virus 1/2 types</i>	H 2053/5053	HSV 1/2	60 °C	360	4,00	5,00	10,00
<i>Varicella-zoster virus</i>	V 2061/5061	VZV	60 °C	381	4,00	5,00	10,00
<i>Epstein-Barr virus</i>	E 2063/5063	EBV	60 °C	558	4,00	5,00	10,00
<i>Human cytomegalovirus</i>	C 2062/5062	HCMV	60 °C	451	4,00	5,00	10,00
<i>Human herpes virus 6 type</i>	H 2056/5056	HHV 6	60 °C	371	4,00	5,00	10,00
<i>Human herpes virus 7 type</i>	H 2098/5098	HHV 7	60 °C	437	4,00	5,00	10,00
<i>Human herpes virus 8 type</i>	H 2057/5057	HHV 8	60 °C	272	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, general</i>	P 2065/5065	HPVgen.	60 °C	450	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, 16 type</i>	P 2067/5067	HPV 16	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, 18 type</i>	P 2068/5068	HPV 18	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, 16/18 types</i>	P 2066/5066	HPV16/18	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, high risk</i>	P 2069/5069	HPV h.r.	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, high risk-plus</i>	P 2114/5114	HPV h.r.+	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, low risk</i>	P 2070/5070	HPV l.r.	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Human papillomavirus, genotyping</i>	P 2071/5071	HPV typing	60 °C	154	4,00	5,00	10,00
<i>Adenovirus, general</i>	A 2099/5099	AdV gen	60 °C	272	4,00	5,00	10,00
<i>Human immunodeficiency virus 1</i>	I 2112/5112	proHIV I	60 °C	376	4,00	5,00	10,00
<i>Human T-lymphotropic virus 1/II</i>	L 2074/5074	proHTLV I/II	60 °C	375	4,00	5,00	10,00
<i>Poliomavirus (JCV, BKV, SV40)</i>	P 2076/5076	JCV, BKV, SV	60 °C	232	4,00	5,00	10,00
<i>Poliomavirus BK</i>	B 2147/5147	BKV	60 °C	232	4,00	5,00	10,00
<i>Bovine leukemia virus (gag)</i>	L 2072/5072	proBLV	60 °C	347	4,00	5,00	10,00
<i>Bovine immunodeficiency virus</i>	I 2134/5134	proBIV	60 °C	382	4,00	5,00	10,00
<i>Bovine herpes virus, I type</i>	H 2073/5073	BHV I	60 °C	355	4,00	5,00	10,00
<i>Aleutian mink disease parvovirus</i>	A 2143/5143	AMDV	60 °C	298	4,00	5,00	10,00
<i>Actinomyces spp.</i>	A 2144/5144	Act	60 °C	280	4,00	5,00	10,00
<i>Actinomyces israelii</i>	A 2145/5145	Ais	60 °C	280	4,00	5,00	10,00
<i>Atopobium vaginae</i>	A 2146/5146	Ava	60 °C	240	4,00	5,00	10,00



Таблица 4

Входные данные для программирования прибора при использовании набора реагентов
GenPak® DNA PCR test в режиме «реального времени»

Название теста	Каталожные №№	Краткое название	t ⁰ отж.	Параметры реал-тайм ПЦР		
				Threshold Ct	Конечный цикл (КЦ)	t ⁰ считывания
<i>Chlamydia trachomatis</i>	C 5011	Ctr	50 °C	30	40	50 °C
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	C 5012	Cpn.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Chlamydia psittaci</i>	C 5013	Cps.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Chlamydia spp.</i>	C 5014	Chl.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	M 5015	Mtu.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycobacterium avium, subspp paratubercul.</i>	M 5016	Mav	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	M 5026	Min	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycobacterium tuberculosis+bovis</i>	M 5115	M(tu+bo)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Plasmodium falciparum</i>	P 5120	Pfa	50 °C	30	40	50 °C
<i>Plasmodium vivax</i>	P 5121	Pvi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Plasmodium ovale</i>	P 5122	Pov	50 °C	30	40	50 °C
<i>Plasmodium malariae</i>	P 5123	Pma	50 °C	30	40	50 °C
<i>Plasmodium spp. (Pfa+Pvi+Pov+Pma)</i>	P 5124	Pla	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M 5017	Mpn.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma hominis</i>	M 5018	Mho.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma genitalium</i>	M 5019	Mge	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma fermentans</i>	M 5029	Mfe	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma penetrans</i>	M 5076	Mpe	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mycoplasma spp. (Mge+Mho+Mpn+Mfe+Mpe)</i>	M 5091	Myс	50 °C	30	40	50 °C
<i>Legionella pneumophila</i>	L 5058	Lpn	50 °C	30	40	50 °C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K 5077	Kpn	50 °C	30	40	50 °C
<i>Haemophilus influenzae</i>	H 5059	Hin	50 °C	30	40	50 °C
<i>Moraxella catarrhalis</i>	M 5050	Mca	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bordetella pertussis</i>	B 5027	Bpe	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bordetella parapertussis</i>	B 5147	Bppe	50 °C	30	40	50 °C
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	N 5020	Ngo	50 °C	30	40	50 °C
<i>Streptococcus agalactiae</i>	S 5033	Sag.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	S 5034	Spn	50 °C	30	40	50 °C
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S 5103	Spy	50 °C	30	40	50 °C
<i>Helicobacter pylori (ure)</i>	H 5023	Hpy (ure)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Helicobacter pylori (vacA)</i>	H 5024	Hpy (vacA)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Helicobacter pylori (cagA)</i>	H 5025	Hpy (cagA)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Listeria monocytogenes</i>	L 5032	Lmo	50 °C	30	40	50 °C
<i>Listeria spp.</i>	L 5116	Lis	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ureaplasma (parvum+ urealytic.)</i>	U 5037	Ure.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ureaplasma parvum, biovar 1</i>	U 5038	Upa.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ureaplasma urealyticum, biovar2</i>	U 5039	Uur.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Gardnerella vaginalis</i>	G 5030	Gva.	50 °C	30	40	50 °C



<i>Escherichia coli, CFT07, uropathogenic</i>	E 5118	Eco	50 °C	30	40	50 °C
<i>Mobiluncus curtisii</i>	M 5084	Mcu	50 °C	30	40	50 °C
<i>Morganella morganii</i>	M 5105	Mmo	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bacteroides fragilis</i>	B 5085	Bfr	50 °C	30	40	50 °C
<i>Proteus mirabilis</i>	P 5086	Pmi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Prevotella bivia</i>	P 5106	Pbi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P 5107	Pae	50 °C	30	40	50 °C
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	P 5108	Pan	50 °C	30	40	50 °C
<i>Leptospira interrogans</i>	L 5031	Lin.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Leptospira spp. (pathogenic serovars)</i>	L 5137	Lep.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Treponema pallidum</i>	T 5035	Tpa.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Borrelia burgdorferi</i>	B 5042	Bbu	50 °C	30	40	50 °C
<i>Borrelia garinii</i>	B 5089	Bga	50 °C	30	40	50 °C
<i>Borrelia afzelii</i>	B 5090	Baf	50 °C	30	40	50 °C
<i>Borrelia spp. (burgdorferi+garinii+afzelii)</i>	B 5110	Bor	50 °C	30	40	50 °C
<i>Babesia divergens</i>	B 5126	Bdi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Babesia canis</i>	B 5127	Bca	50 °C	30	40	50 °C
<i>Babesia equi</i>	B 5128	Beq	50 °C	30	40	50 °C
<i>Babesia microti</i>	B 5129	Bmi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Babesia spp.</i>	B 5130	Bab	50 °C	30	40	50 °C
<i>Toxoplasma gondii</i>	T 5021	Tgo	50 °C	30	40	50 °C
<i>Lactobacillus spp.</i>	L 5088	Lac	50 °C	30	40	50 °C
<i>Trichomonas vaginalis</i>	T 5036	Tva.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Candida albicans</i>	C 5040	Cal	50 °C	30	40	50 °C
<i>Candida glabrata</i>	C 5109	Cgl	50 °C	30	40	50 °C
<i>Aspergillus fumigatus</i>	A 5041	Afu	50 °C	30	40	50 °C
<i>Pneumocystis carinii</i>	P 5022	Pca.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Cryptococcus neoformans</i>	C 5078	Cne	50 °C	30	40	50 °C
<i>Clostridium difficile</i>	C 5028	Cdi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Y 5047	Yen	50 °C	30	40	50 °C
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Y 5111	Yps	50 °C	30	40	50 °C
<i>Yersinia pestis</i>	Y 5117	Ype	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bacillus anthracis</i>	B 5125	Ban	50 °C	30	40	50 °C
<i>Enterococcus faecalis</i>	E 5079	Efal	50 °C	30	40	50 °C
<i>Enterococcus faecium</i>	E 5080	Efam	50 °C	30	40	50 °C
<i>Cryptosporidium parvum</i>	C 5081	Cpa	50 °C	30	40	50 °C
<i>Campylobacter jejuni</i>	C 5082	Cje	50 °C	30	40	50 °C
<i>Entamoeba histolytica</i>	E 5113	Ehi	50 °C	30	40	50 °C
<i>Giardia lamblia</i>	G 5083	Gla	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ehrlichia spp.</i>	E 5048	Ehr	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ehrlichia murris/Yamaguchi</i>	E 5138	Emu	50 °C	30	40	50 °C
<i>Ehrlichia(Anaplasma) phagocytophilum</i>	E 5136	Eph	50 °C	30	40	50 °C
<i>Rickettsia spp.</i>	R 5104	Ric	50 °C	30	40	50 °C
<i>Brucella melitensis.</i>	B 5043	Bme.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Francisella tularensis, spp</i>	F 5044	Fra	50 °C	30	40	50 °C
<i>Francisella tularensis, tularensis</i>	F 5141	Ftu	50 °C	30	40	50 °C
<i>Francisella tularensis, holarctica</i>	F 5142	Fho	50 °C	30	40	50 °C
<i>Vibrio cholerae (tox R)</i>	V 5045	Vcho (toxR)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Vibrio cholerae (omp W)</i>	V 5046	Vcho(ompW)	50 °C	30	40	50 °C
<i>Tetracycline resistance gene, tetM</i>	T 5092	tetM	50 °C	30	40	50 °C
<i>Tetracycline resistance gene, tetQ</i>	T 5093	tetQ	50 °C	30	40	50 °C



<i>Erythromycin resistance gene, ermF</i>	E 5094	ermF	50 °C	30	40	50 °C
<i>Hepatitis B virus</i>	B 5049	HBV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Transfusion transmit.virus.general</i>	T 5050	TTVgen.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Parvovirus B19</i>	B 5052	PV B19	50 °C	30	40	50 °C
<i>SEN virus D</i>	H 5054	SENV-D	50 °C	30	40	50 °C
<i>SEN virus H</i>	H 5055	SENV-H	50 °C	30	40	50 °C
<i>SEN virus D/H</i>	H 5053	SENV-D/H	50 °C	30	40	50 °C
<i>Herpes simplex virus 1 type</i>	V 5061	HSV 1	50 °C	30	40	50 °C
<i>Herpes simplex virus 2 type</i>	E 5063	HSV 2	50 °C	30	40	50 °C
<i>Herpes simplex virus 1/2 types</i>	C 5062	HSV 1/2	50 °C	30	40	50 °C
<i>Varicella-zoster virus</i>	H 5056	VZV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Epstein-Barr virus</i>	H 5098	EBV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human cytomegalovirus</i>	H 5057	HCMV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human herpes virus 6 type</i>	P 5065	HHV 6	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human herpes virus 7 type</i>	P 5067	HHV 7	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human herpes virus 8 type</i>	P 5068	HHV 8	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, general</i>	P 5066	HPVgen.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, 16 type</i>	P 5069	HPV 16	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, 18 type</i>	P 5114	HPV 18	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, 16/18 types</i>	P 5070	HPV16/18	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, high risk</i>	P 5071	HPV h.r.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, high risk-plus</i>	A 5099	HPV h.r.+	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, low risk</i>	I 5112	HPV l.r.	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human papillomavirus, genotyping</i>	L 5074	HPV typing	50 °C	30	40	50 °C
<i>Adenovirus, general</i>	A 5099	AdV gen	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human immunodeficiency virus 1</i>	I 5112	proHIV I	50 °C	30	40	50 °C
<i>Human T-lymphocytotropic virus 1/II</i>	L 5074	proHTLV I/II	50 °C	30	40	50 °C
<i>Poliomavirusis (JCV, BKV, SV40)</i>	P 5076	JCV, BKV, SV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Poliomavirusis BK</i>	B 5147	BKV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bovine leukemia virus (gag)</i>	L 5072	proBLV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bovine immunodeficiency virus</i>	I 5134	proBIV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Bovine herpes virus, I type</i>	H 5073	BHV I	50 °C	30	40	50 °C
<i>Aleutian mink disease parvovirus</i>	A 5143	AMDV	50 °C	30	40	50 °C
<i>Actinomyces spp.</i>	A 5144	Act	50 °C	30	40	50 °C
<i>Actinomyces israelii</i>	A 5145	Ais	50 °C	30	40	50 °C
<i>Atopobium vaginae</i>	A 5146	Ava	50 °C	30	40	50 °C