

« У Т В Е Р Ж Д А Ю »

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации

_____ Г.Г. Онищенко

« _____ » _____ 2008 г.

№ _____

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и
U. urealyticum) в клиническом материале методом полимеразной
цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов
амплификации в агарозном геле

«АмплиСенс® *Ureaplasma* spp.-EPh»

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича

Роспотребнадзора

Н.В.Медуницын

« 20 » 07 2008 г.



ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ.

Набор реагентов выпускается в 5 формах комплектации:

Форма 1 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 2 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл);

Форма 4 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл);

Форма 5 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 200.

ВНИМАНИЕ! Заявленные аналитические характеристики набора реагентов при работе с формами 3, 4 и 5 гарантируются в случае применения дополнительных комплектов реагентов «ДНК-сорб-АМ» и «ЭФ» производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора.

СОСТАВ.

Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 (ТУ 9398-036-01897593-2007) – комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала **включает:**

Реактив	Описание	Объем (мл)	Кол-во
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость*	30	1 флакон
Отмывочный раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	100	1 флакон
Сорбент универсальный	Суспензия белого цвета	1,0	2 пробирки
ТЕ-буфер для элюции ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	5,0	2 пробирки

* При хранении лизирующего раствора при температуре от 2 до 8 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

Дополнительно к комплекту реагентов «ДНК-сорб-АМ» прилагаются следующие реактивы:

Реактив	Описание	Объем (мл)	Кол-во
Транспортная среда для мазков	Прозрачная бесцветная жидкость	30	1 флакон
ВКО комплексный ¹⁾	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
ВКО-FL ²⁾	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на выделение ДНК из 100 проб, включая контроли.

¹⁾ Препарат ВКО комплексный используется для выделения ДНК при работе с наборами с электрофоретической детекцией.

²⁾ Препарат ВКО-FL используется для выделения ДНК при анализе с помощью наборов с

Искренне

гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R или вариант 200 – комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) включает:

Реактив	Описание	«ПЦР-комплект» вариант 100 R		«ПЦР-комплект» вариант 200	
		Объём (мл)	Кол-во	Объём (мл)	Кол-во
ПЦР-смесь-1-R <i>Ureaplasma</i> spp. раскапана под воск	Прозрачная бесцветная жидкость	0,005	110 пробирок объёмом 0,5 или 0,2 мл	---	---
ПЦР-смесь-1 <i>Ureaplasma</i> spp.	Прозрачная бесцветная жидкость	---	---	1,1	1 пробирка
ПЦР-смесь-2 blue	Прозрачная жидкость синего цвета	1,2	1 пробирка	1,2	2 пробирки
Воск для ПЦР	Твердое вещество белого цвета	---	---	1,7	2 пробирки
Минеральное масло для ПЦР	Бесцветная вязкая жидкость	4,0	1 флакон	8,0	1 флакон
ПКО ДНК <i>Ureaplasma</i> spp.	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка	0,2	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов вариант 100 R рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 200 рассчитан на проведение 220 реакций амплификации, включая контроли.

Комплект реагентов «ЭФ» вариант 200 – комплект реагентов для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле включает:

Реактив	Описание	Объём (мл), Масса (г)	Кол-во
Трис-боратный буфер (ТБЕ) концентрированный с бромидом этидия	Прозрачная жидкость оранжевого цвета	50 мл	1 флакон
Агароза для электрофореза ДНК	Порошок белого цвета	1,7 г	2 флакона

Комплект реагентов рассчитан на электрофоретический анализ 240 образцов (из расчета 100 мл геля – 5 рядов по 24 лунки).

НАЗНАЧЕНИЕ.

Набор реагентов «АмплиСенс® *Ureaplasma* spp.-EPH» предназначен для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле.

Формы комплектации 1 и 2 предназначены для полного анализа, включая выделение ДНК из клинического материала, проведения ПЦР-амплификации и детекции продуктов ПЦР-амплификации методом электрофореза в агарозном геле.

Формы комплектации 3, 4, 5 предназначены для проведения ПЦР-амплификации. Для полного анализа необходимо дополнительно использовать комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» для выделения ДНК из клинического материала и комплект реагентов «ЭФ» для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора.

ЗАБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.

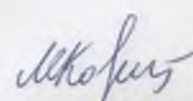
Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Забор, транспортировка и хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», подготовленными ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора, Москва, 2007 г.

Материалом для исследования служат: соскобы (мазки) со слизистых оболочек урогенитального тракта, осадок клеток первой порции утренней мочи.

Примечание. Материалом для исследования может служить секрет предстательной железы. В этом случае для выделения ДНК рекомендуется использовать комплект реагентов «ДНК-сорб-В» (производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

1. Необходимо строго соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы здравоохранения СССР», Москва, 1981 г.
2. Работать только в одноразовых перчатках, использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером. Одноразовая пластиковая посуда (пробирки, наконечники) должна сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.
3. Анализ проводится в три этапа в трех отдельных помещениях (зонах), согласно МУ 1.3.1888-04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности».
4. Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, а также все рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перенос из одного помещения в другое. Персонал, работающий в помещении для детекции продуктов ПЦР-амплификации (зона 3), не должен посещать помещения для обработки исследуемого материала (зона 1) и проведения реакции ПЦР-амплификации (зона 2). Смена верхней одежды, головных уборов, обуви и перчаток является обязательным условием при выходе из помещения для элек-



профторетического анализа.

Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, должны обязательно до начала и после окончания работ облучаться ультрафиолетовым светом в течение 30 мин.

При работе с включенным трансиллюминатором необходимо пользоваться защитным экраном или защитной маской, так как ультрафиолетовый свет вызывает ожоги лица и слизистой глаз.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА.

(с указанием фирм-производителей/поставщиков):

ЗОНА 1.

Для выделения ДНК из исследуемого материала требуются:

1. Стерильный ламинарный шкаф (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия).
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
3. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).
4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия).
5. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
6. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Лен-пипет», Россия или аналогичных).
7. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся микро-пробирки на 1,5 мл (например, «Axygen», США).
8. Штативы для микропробирок на 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия) и нако-
нечников (например, «Axygen», США).
9. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до
200 мкл и до 1000 мкл (например, «Axygen», США).
10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл и до 1000 мкл
(например, «Axygen», США).
11. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
12. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
13. Емкость с дезинфицирующим 0,2 % ДП-2Т.

ЗОНА 2.

Для проведения ПЦР-амплификации требуются:

Амплификатор (например, «Терцик» («ДНК-Технология», Россия), «Gradient Palm Cycler» («Corbett Research», Австралия) или эквивалентный).

ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», «Ламинарные системы», Россия).

Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).

Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Ленпи-пет», Россия или аналогичных).

Одноразовые наконечники для микропипеток до 200 мкл (например, «Ахуген», США).

Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 200 мкл (например, «Ахуген», США).

Одноразовые полипропиленовые микропробирки для ПЦР на 0,5 (0,2) мл (например, «Ахуген», США).

Штативы для наконечников (например, «Ахуген», США) и микропробирок на 0,5 (0,2) мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).

Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.

Отдельный халат и одноразовые перчатки.

Емкость для сброса наконечников.

ЗОНА 3.

Для детекции продуктов ПЦР-амплификации методом электрофореза в агарозном геле требуются:

Камера для горизонтального электрофореза объемом не более 400 мл (например, «SE-2», «Хеликон», Россия).

Источник постоянного тока с напряжением 150-460 В (например, «Эльф-4», «ДНК-Технология», Россия).

Ультрафиолетовый трансиллюминатор с кабинетом для просмотра гелей (например, «Биоком», Россия).

Видеосистема с цифровой камерой для регистрации результатов и передачи изображения (например, «Биотест-1», «ЦНИИ эпидемиологии», Россия; «Bio-Rad»; США).

Аквадистиллятор.

Холодильник от 2 до 8 °С.

Микроволновая печь (или электроплитка) для плавления агарозы.

Колба коническая из термостойкого стекла (ГОСТ 21400) для плавления агарозы на 250 мл.

Мерный цилиндр на 1 л (ГОСТ 1770).

Штатив для микропробирок на 0,5 (0,2) мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).

Дозатор объемом 10-40 мкл (например, «Ленпипет», Россия).

Одноразовые наконечники до 200 мкл в штативе (например, «Ахуген», США).

Пластиковая емкость на 5 л для дезактивации буфера и гелей, содержащих бромид этидия.

Отдельный халат и одноразовые перчатки.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-АНАЛИЗА.

ЭТАП 1. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.

(проводится в ЗОНЕ 1 – помещении для обработки исследуемого материала).

Объем исследуемого материала для выделения ДНК – 0,1 мл.

Порядок работы.

1. Лизирующий раствор (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть, перемешивая при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

2. Добавление реагентов.

Способ 1:

– отобрать необходимое количество одноразовых пробирок **1,5 мл** (включая отрицательный контроль выделения) и, используя наконечник с аэрозольным барьером, внести в каждую пробирку по **10 мкл ВКО комплексного**.

– ресуспендировать **сорбент универсальный** до гомогенной консистенции, внести в каждую пробирку по **20 мкл сорбента универсального** и по **300 мкл лизирующего раствора**, используя наконечники с аэрозольным барьером. Промаркировать пробирки.

Способ 2:

перед началом работы во флакон с лизирующим раствором добавить весь объем сорбента универсального (2 мл на 30 мл лизирующего раствора) и необходимый объем (1 мл на 30 мл лизирующего раствора) **ВКО комплексного** и перемешать. Допускается хранение полученной смеси в течение 2 сут при комнатной температуре. Перед применением тщательно перемешать.

отобрать необходимое количество одноразовых пробирок **1,5 мл** (включая отрицательный контроль выделения) и, используя наконечник с аэрозольным барьером, внести в каждую пробирку по **320 мкл** подготовленного **лизирующего раствора**. Промаркировать пробирки

3. В пробирки согласно маркировке внести по **100 мкл** клинического образца, используя для каждой пробы отдельный наконечник с аэрозольным барьером. В пробирку отрицательного контроля выделения внести **100 мкл ОКО**.

4. Пробы тщательно перемешать на вортексе и инкубировать **5 мин при температуре 65 °С** в термостате. После окончания инкубации перемешать на вортексе и поставить в штатив на **2 мин**.

5. Осадить сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при **10 тыс об/мин в течение 30 с**. Не захватывая сорбент универсальный, удалить надосадочную жидкость в колбу-ловушку с помощью вакуумного отсасывателя, используя для каждой пробы отдельный наконечник без аэрозольного барьера.

6. Добавить в пробы по **1 мл отмывочного раствора**, перемешать на вортексе до полного

М.Корни

ресуспендирования сорбента универсального.

7. Повторить п. 5.

8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °C** на **5-10 мин** для подсушивания сорбента универсального. При этом крышки пробирок должны быть открыты.

9. В пробирки добавить по **100 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК**. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального. Поместить в термостат с температурой **65 °C** на **5 мин**.

10. Центрифугировать пробирки при **12 тыс об/мин** в течение **1 мин** на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

Очищенную ДНК можно хранить в течение 1 нед при температуре от 2 до 8 °C и в течение года при температуре не выше минус 16 °C.

ЭТАП 2. ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ.

(проводится в ЗОНЕ 2 – помещении для проведения ПЦР-амплификации).

Общий объем реакции – 25 мкл, объем ДНК-пробы – 10 мкл.

В комплекте реагентов применяется «горячий старт», который обеспечивается разделением нуклеотидов и Taq-полимеразы прослойкой воска. Плавление воска и перемешивание реакционных компонентов происходит только при установке пробирок в амплификатор, нагретый до температуры **95 °C**, что значительно снижает количество неспецифически затравленных реакций.

А. Подготовка пробирок для проведения ПЦР.

При использовании комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R пункты 1 и 2 выполнять не нужно.

1. Пробирку с **воском для ПЦР** прогреть в термостате при температуре **95 °C** до полного расплавления.

2. Раскапать на дно микропробирок для амплификации по **5 мкл ПЦР-смеси-1 *Ureaplasma spp.*** Сверху добавить по капле (примерно 10-15 мкл) расплавленного воска так, чтобы он полностью накрыл жидкость, закрыть крышки пробирок, подписать на каждой сокращенное название инфекции. Пробирки с разлитой ПЦР-смесью-1 *Ureaplasma spp.* и воском можно хранить при температуре от 2 до 8 °C.

3. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-R *Ureaplasma spp.*** и воском для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.

4. На поверхность воска внести по **10 мкл ПЦР-смеси-2 blue**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с **ПЦР-смесью-1-R *Ureaplasma spp.***

5. Сверху добавить по капле **минерального масла для ПЦР** (примерно 25 мкл). При использо-

Искри
0-1-1-1

1328
вании амплификатора с термостатируемой крышкой минеральное масло можно не добавлять.

Б. Проведение амплификации.

1. Взять подготовленные для ПЦР пробирки. Под масло или непосредственно на масло, используя наконечники с аэрозольными барьерами, внести по **10 мкл ДНК-проб**, выделенных из исследуемых или контрольных проб этапа выделения ДНК.

2. Поставить **контрольные реакции амплификации**:

а) **отрицательный контроль (К-)** – вместо ДНК-пробы внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**

б) **положительный контроль (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК *Ureaplasma spp.***

3. Запустить на амплификаторе программу (см. табл. 1). Когда температура в ячейках достигнет 95 °С, поставить программу на паузу, поместить пробирки в ячейки амплификатора, закрыть крышку прибора и снять программу с паузы.

Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием на вортексе (1-3 с).

Таблица 1.

Программа амплификации ДНК *Ureaplasma spp.*

цикл	Амплификаторы с активным регулированием (по раствору в пробирке):			Амплификаторы с матричным регулированием температуры:		
	температура	время	циклы	температура	время	циклы
0	95 °С	пауза		95 °С	пауза	
1	95 °С	5 мин	1	95 °С	5 мин	1
2	95 °С	10 с	42	95 °С	15 с	42
	65 °С	10 с		65 °С	25 с	
	72 °С	10 с		72 °С	25 с	
3	72 °С	1 мин	1	72 °С	1 мин	1
4	4 °С	хранение		4 °С	хранение	

Время амплификации на амплификаторе с регулированием температур по матрице примерно 2 ч 30 мин, на амплификаторе с активным регулированием – 1 ч 50 мин.

4. После окончания реакции собрать пробирки в штатив и отправить в помещение для детекции продуктов ПЦР-амплификации (ЗОНУ 3).

Образцы после амплификации можно хранить в течение 16 ч при комнатной температуре, в течение 1 нед при температуре от 2 до 8 °С и длительно при температуре не выше минус 16 °С (однако перед проведением электрофореза необходимо нагреть пробирки до комнатной температуры для размягчения воска).

Анализ продуктов амплификации проводится разделением фрагментов ДНК в агарозном геле.

И.Копеев

ЭТАП 3. ДЕТЕКЦИЯ ПРОДУКТОВ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРО-ФОРЕЗА В АГАРОЗНОМ ГЕЛЕ.

(проводится в ЗОНЕ 3 – помещении для детекции продуктов ПЦР-амплификации).

ВНИМАНИЕ! РАБОТА С АМПЛИФИЦИРОВАННОЙ ДНК ДОЛЖНА ПРОВОДИТЬСЯ В ОТДЕЛЬНОЙ КОМНАТЕ СОТРУДНИКОМ ЛАБОРАТОРИИ, НЕ ПРОИЗВОДЯЩИМ МАНИПУЛЯЦИЙ В ЗОНЕ 1 И ЗОНЕ 2.

Приготовление рабочих растворов и агарозного геля.

1. Приготовить рабочий электрофорезный буфер. В мерный цилиндр влить **25 мл трис-боратного буфера (ТБЕ)** концентрированного с бромидом этидия, довести дистиллированной водой до **500 мл**, закрыть цилиндр парафильмом и перемешать.

ВНИМАНИЕ! Бромид этидия – канцерогенное соединение, поэтому при работе с ним следует соблюдать правила безопасности: работать только в перчатках, избегать попадания на кожу и слизистые, при попадании на кожу или слизистые тщательно промыть соответствующий участок водой.

Все реагенты, содержащие этидия бромид, перед утилизацией следует подвергать специальной обработке (см. раздел «Обеззараживание»).

2. **Агарозу для электрофореза ДНК** из одного флакона пересыпать в стеклянную колбу из термостойкого стекла на 250 мл. Налить **100 мл** рабочего буфера, перемешать вращением колбы и плавить в микроволновой печи до полного растворения агарозы. Время плавления агарозы в микроволновой печи мощностью 800 Вт при ее загруженности 1 колбой – 1,5 мин. Если в микроволновую печь мощностью 800 Вт ставится 5 колб с агарозой, время плавления увеличивается до 5 мин. После этого вновь поместить колбу с агарозой в микроволновую печь на 1,5 мин (при мощности 800 Вт), довести агарозу до кипения. Вынуть колбу из микроволновой печи и остудить агарозу, вращая колбу, до температуры 65-70 °С.
3. Выровнять столик для заливки гелей, залить расплавленный гель в форму камеры. Установить гребенки, не касаясь дна формы, на расстоянии не менее **5 см** друг от друга. Толщина геля должна быть около 0,6 см.
4. После полного застывания геля (30 мин при комнатной температуре), осторожно вынуть из него гребенки, не повредив лунки. Поместить подложку с готовым гелем в камеру, лунки должны располагаться ближе к отрицательному электроду. ДНК, соответственно, движется к положительному. Залить в камеру готового буфера столько, чтобы он покрывал гель на 5 мм сверху.

Порядок работы.

1. Пребирки с продуктами амплификации выставить в штатив последовательно, отобрать из-под слоя масла по **10-15 мкл** пробы и внести в лунки геля (если для нанесения разных проб используется один и тот же наконечник, то его необходимо промывать буфером из камеры после нане-

МКОР

сения каждого образца). В **каждом** ряду лунок геля должен быть обязательно представлен **K+** и, желательно, маркер молекулярных масс.

2. Подключить камеру к источнику тока, соблюдая полярность (ДНК движется к положительному электроду), и включить источник. Оптимальное напряжение электрического поля 10 В/см. При использовании камеры «SE-2» («Хеликон») и источника питания «Эльф-4» («ДНК-Технология») параметры источника следующие: напряжение 250 В, стабилизация по напряжению, время электрофореза – 18-20 мин.
3. Когда краситель пройдет примерно половину длины геля (не менее 1,5 см), выключить источник тока, перенести гель на трансиллюминатор, расположив полосы горизонтально лунками вверх. Получить изображение геля на компьютере с помощью видеосистемы, отмечая порядок нанесения проб, занести в базу данных.

ВНИМАНИЕ! При просматривании геля и фотографировании глаза и лицо должны быть защищены маской или стеклянной пластиной!

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Учёт результатов ПЦР-анализа проводится по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос амплифицированной ДНК (см. табл. 2).

Ureaplasma spp. – 450 п.н.

ВКО комплексный – 750 п.н.

Аналитическая чувствительность набора реагентов – не менее 5×10^3 цветообразующих единиц в 1 мл клинической пробы (ЦОЕ/мл).

Таблица 2.

Результаты постановки контролей различных этапов ПЦР-анализа

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-анализа	Специфическая полоса на электрофореграмме	
		полоса 450 п.н.	полоса 750 п.н.
«ОК»	Выделение ДНК	Нет	Есть
«К-»	ПЦР	Нет	Нет
«К+»	ПЦР	Есть	Нет

1. В дорожке, соответствующей отрицательному контролю этапа выделения (ОК), должна быть только полоса внутреннего контроля на уровне 750 п.н.
2. В дорожке, соответствующей положительному контролю этапа ПЦР (К+), должна быть только полоса положительного контроля – 450 п.н., и должна отсутствовать полоса внутреннего контроля 750 п.н.
3. В дорожке, соответствующей отрицательному контролю этапа ПЦР (К-), не должно быть никаких полос, за исключением возможных праймер-димеров, находящихся ниже уровня 100 п.н.
4. Положительными считаются образцы, которые содержат специфическую светящуюся

Игорь

полосу на уровне **450 п.н.** большей или меньшей интенсивности независимо от наличия полосы внутреннего контроля. Полоса внутреннего контроля может отсутствовать в пробах с высокой концентрацией ДНК *Ureaplasma spp.*

5. **Отрицательными** считаются образцы, которые содержат только полосу **750 п.н.** большей или меньшей интенсивности и не содержат полосу **450 п.н.**
6. Кроме полос **450 п.н.** и **750 п.н.** в дорожках могут наблюдаться нечеткие размытые полосы праймер-димеров, которые располагаются ниже уровня 100 нуклеотидных пар.

Результаты анализа не подлежат учету в следующих случаях:

1. Если результаты анализа контрольных точек не совпадают с приведенными в табл. 2, то соответствующий этап анализа следует переделать.
2. Если в дорожке какой-либо из исследуемых проб отсутствуют обе полосы, и **450 п.н.** и **750 п.н.** Результат анализа по данной пробе считается недействительным, необходимо повторить исследование этой пробы с этапа выделения ДНК. Возможная причина: ошибка в процедуре подготовки исследуемого материала, приведшая к потере ДНК или ингибированию ПЦР.
3. В дорожках появляются неспецифические полосы на разных уровнях. Возможные причины: отсутствие «горячего старта» или неверный температурный режим в ячейках амплификатора.
4. Если в отрицательном контроле (ОК, К-) выявляется специфическая полоса **450 п. н.**, значит, произошла контаминация реактивов или образцов. Результаты анализа считают недействительными. Требуется повторить анализ проб, а также предпринять меры по выявлению источника контаминации.

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ.

1. Обеззараживание биоматериалов и реактивов проводят для каждой стадии отдельно, помещая одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники), колбы-ловушки вакуумных отсасывателей на 20-24 ч в контейнеры, содержащие дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.
2. Отработанные гели и буфер из камеры помещают в пластиковую емкость на 5 л с плотно закрывающейся крышкой. На 1 л обезвреживаемых реактивов добавляют 1 л 0,5 М раствора калия перманганата и затем 1 л 2,5 М соляной кислоты. Аккуратно перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 4-6 ч. Для нейтрализации добавляют 1 л 2,5 М натрия гидроксида, аккуратно перемешивают. Нейтрализованные реактивы сбрасывают в канализацию. Отработанный буфер можно дезактивировать с помощью стеклянной колонки емкостью на 1-2 л, заполненной активированным углем, Отработанный буфер пропускать через нее небольшими порциями. Дезактивированный раствор можно сливать в канализацию.

И.И.И.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.

Срок годности. 9 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

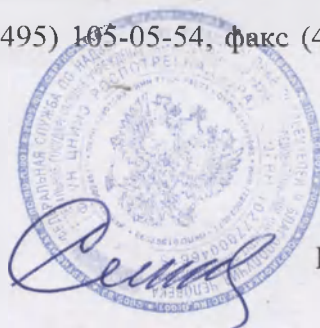
Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. При получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение. Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» (кроме транспортной среды для мазков, ВКО комплексного и ОКО) хранить при температуре от 2 до 25 °С. Комплект реагентов «ПЦР-комплект», транспортную среду для мазков, ВКО комплексный и ОКО хранить при температуре от 2 до 8 °С. Комплект реагентов «ЭФ» хранить при температуре от 18 до 25 °С в защищенном от света месте.

Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество набора реагентов «АмплиСенс® *Ureaplasma spp.-EPH*» направлять в адрес ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора (119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел. (495) 241-39-22, факс (495) 241-92-38), в адрес предприятия-изготовителя ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора (111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, тел. (495) 305-39-39, факс (495) 305-54-23, e-mail: obtk@pcr.ru) и в адрес официального дилера — компанию ООО «ИнтерЛабСервис» (тел. (495) 105-05-54, факс (495) 916-18-18, e-mail: products@pcr.ru).

Директор ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора

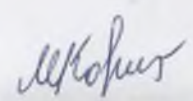


В.И. Покровский

Руководитель Государственных испытаний
Зав. лабораторией биохимии и биотехнологии
ФГУН ГИСК им. Тарасевича Роспотребнадзора



Р.А. Волкова



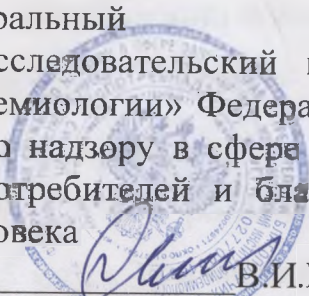
ОКП 93 9816

УТВЕРЖДЕН

Приказом Росздравнадзора
от _____ № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека


В.И.Покровский
«20» _____ 2008 г.

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле

«АмплиСенс® *Ureaplasma spp.*-EPh»

соответствующий требованиям

ТУ 9398-046-01897593-2008

2008 г.

Настоящий Нормативный документ распространяются на набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле «АмплиСенс[®] *Ureaplasma spp.*-EPh», далее по тексту – набор.

Набор выпускается в пяти формах комплектации:

Форма 1 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 2 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл);

Форма 4 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл).

Форма 5 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 200.

Формы комплектации 1 и 2 предназначены для полного анализа, включая выделение ДНК из клинического материала, проведения ПЦР-амплификации и детекции продуктов ПЦР-амплификации методом электрофореза в агарозном геле.

Формы комплектации 3, 4, 5 предназначены для проведения ПЦР-амплификации. Для полного анализа необходимо дополнительно использовать комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» для выделения ДНК из клинического материала и комплект реагентов «ЭФ» для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора.

Один набор в зависимости от формы комплектации предназначен для проведения 100 тестов (для форм 1, 2, 3, 4) или 200 тестов (для формы 5), включая контроли.

Классификация набора по степени потенциального риска применения – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).

Область применения набора – клиническая медицина.

..ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

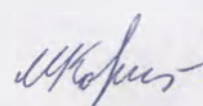
Набор должен соответствовать требованиям настоящего нормативного документа.

По показателям качества набор должен соответствовать характеристикам и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Методы контро- ля
1	2	3
1.1. Описание		
1.1.1. Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	Визу- ально
1.1.2. Отмывочный раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.3. Сорбент универсальный	Суспензия белого цвета	
1.1.4. ТЕ-буфер для элюции ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.5. Транспортная среда для мазков	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.6. ВКО комплексный	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.7. ВКО-FL	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.8. ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.9. ПЦР-смесь-1 <i>Ureaplasma</i> <i>spp.</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.10. ПЦР-смесь-1-R <i>Urea-</i> <i>plasma spp.</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.11. ПЦР-смесь-2 blue	Прозрачная жидкость синего цвета	
1.1.12. Воск для ПЦР	Твердое вещество белого цвета	
1.1.13. Минеральное масло для ПЦР	Бесцветная вязкая жидкость	

1.1.14. ПКО ДНК <i>Ureaplasma spp.</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	
1.1.15. Трис-боратный буфер (ТБЕ) концентрированный с бромидом этидия	Прозрачная жидкость оранжевого цвета	
1.1.16. Агароза для электрофореза ДНК	Порошок белого цвета	
2. рН		Согласно
2.1. Лизирующий раствор	от 7,2 до 7,8	ТУ
3. Технические характеристики (чувствительность и специфичность)		Согласно
3.1. Чувствительность		ТУ
3.1.1. Разведения отраслевого стандартного образца <i>Ureaplasma urealyticum</i> 42-28-391-06 «ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i> » в концентрациях не менее 5×10^3 цветобразующих единиц в 1 мл пробы (ЦОЕ/мл)	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> на уровне 450 п.н.	
3.2. Специфичность		
3.2.1. ОКО – отрицательный контрольный образец	Отсутствие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> на уровне 450 п.н.	
3.2.2. <i>Mycoplasma arginini</i> G-230 (ОСО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230)	Отсутствие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> на уровне 450 п.н.	



СОСТАВ.

Комплекты реагентов, используемые в комплектации набора:

Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 (ТУ 0398-036-01897593-2007) – для выделения ДНК из клинического материала, включает:

- 1) Лизирующий раствор;
- 2) Отмывочный раствор;
- 3) Сорбент универсальный;
- 4) ТЕ-буфер для элюции ДНК

Дополнительно к комплекту реагентов «ДНК-сорб-АМ» прилагаются следующие реактивы:

- 5) Транспортная среда для мазков;
- 6) ВКО комплексный – внутренний контрольный образец;
- 7) ВКО-FL;
- 8) ОКО – отрицательный контрольный образец.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R или 200 – для ПЦР-амплификации ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*), включает:

- 1) ПЦР-смесь-1 или ПЦР-смесь-1-R *Ureaplasma spp.*;
- 2) ПЦР-смесь-2 blue;
- 3) Воск для ПЦР (только для варианта 200);
- 4) Минеральное масло для ПЦР;
- 5) ПКО ДНК *Ureaplasma spp.*;
- 6) ДНК-буфер

Комплект реагентов «ЭФ» вариант 200 – для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле, включает:

- 1) Трис-боратный буфер (ТБЕ) концентрированный с бромидом этидия;
- 2) Агарозу для электрофореза ДНК.

М. Кошкин

УПАКОВКА.

Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100:

Лизирующий раствор – 30 мл, в пластиковом флаконе вместимостью 50 мл с завинчивающейся крышкой (Наро-Фоминский завод пластмасс, Россия, кат. № 991 или аналогичного качества) – 1 шт.;

Отмывочный раствор – 100 мл, в пластиковом флаконе вместимостью 100 мл с завинчивающейся крышкой (Наро-Фоминский завод пластмасс, Россия, кат. № 992 или аналогичного качества) – 1 шт.;

Сорбент универсальный – по 1,0 мл в пластиковой пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150 или аналогичного качества) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP или аналогичного качества) – 2 шт.;

ТЕ-буфер для элюции ДНК – по 5,0 мл в пробирке вместимостью 5,0 мл с завинчивающейся крышкой («QSP», США, кат. № 582-GRD или аналогичного качества) – 2 шт.;

Транспортная среда для мазков – 30 мл, в пластиковом флаконе вместимостью 50 мл («Zinsser», Германия, кат. № 3071450 или аналогичного качества) с завинчивающейся крышкой («Zinsser», Германия, кат. № Z-3000011 или аналогичного качества) – 1 шт.;

ВКО комплексный – 1,0 мл в микропробирке вместимостью 2,0 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150 или аналогичного качества) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP или аналогичного качества) – 1 шт.;

ВКО-FL – 1,0 мл в микропробирке вместимостью 2,0 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150 или аналогичного качества) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP или аналогичного качества) – 1 шт.

ОКО – 1,2 мл в пластиковой пробирке вместимостью 2 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150 или аналогичного качества) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP или аналогичного качества) – 1 шт.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 200:

Игорь

ПЦР-смесь-1 *Ureaplasma spp.* – 1,1 мл в пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP) или в аналогичной – 1 шт.;

ПЦР-смесь-2 blue – по 1,2 мл в пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP) или аналогичной – 2 шт.;

Воск для ПЦР – по 1,7 мл в пробирке вместимостью 2,0 мл («Ахуген», США, кат. № ST 200) – 2 шт.;

Минеральное масло для ПЦР – 8,0 мл в пластиковом флаконе вместимостью 10 мл («Zinsser», Германия, кат. № 3071520) с завинчивающейся крышкой («Zinsser», Германия, кат. № 3000011) или аналогичного качества или капельнице (Polfa Boleslawec, Польша) или аналогичной – 1 шт.;

ПКО ДНК *Ureaplasma spp.* – 0,2 мл в пластиковой пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP) или аналогичной – 1 шт.;

ДНК-буфер – 0,5 мл в пластиковой пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP) или аналогичной – 1 шт.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R:

ПЦР-смесь-1-R *Ureaplasma spp.* – по 0,005 мл в микропробирках вместимостью в зависимости от формы комплектации: 0,5 мл («Ахуген», США, кат. № MCT-060) или 0,2 мл («Ахуген», США, кат. № PCR-02) или в аналогичных – 110 шт.;

ПЦР-смесь-2 blue – 1,2 мл в пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген», США, кат. № SCO-LP) или аналогичной – 1 шт.;

Минеральное масло для ПЦР – 4,0 мл в пробирке вместимостью 5,0 мл с завинчивающейся крышкой («QSP», США, кат. № 582-GRD) или капельнице (Polfa Boleslawec, Польша) или аналогичной – 1 шт.;

ДНК-буфер – 0,5 мл в пластиковой пробирке вместимостью 1,5 мл («Ахуген», США, кат. № ST 150) с завинчивающейся крышкой («Ахуген»,

Искорки



УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора

Н.В. Медуницын

2008 г.

Экспертное заключение

на набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации а агарозном геле

«АмплиСенс *Ureaplasma* spp. -EPH»

производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора

1. **Направительное письмо** ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора входящий № 3589, исходящий № 1065 от 19.09.2007 г.

2. **Дата представления разработчиками документации** – 19.09.07 г. **образцов препарата на контроль** – ноябрь 2007 г.

3. **Экспертиза проводилась с целью** перерегистрации в Российской Федерации.

4. **Диагностический препарат** – набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле

5. **Форма выпуска:**

Набор выпускается в пяти формах комплектации:

Форма 1 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 2 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл), «ЭФ» вариант 200;

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,5 мл);

Форма 4 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 100 R (пробирки 0,2 мл);

Форма 5 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант 200.

6. **Состав.**

Комплекты реагентов, используемые в составе набора:

- «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 из 8 реагентов;
- «ПЦР-комплект» вариант 200 из 6 реагентов или «ПЦР-комплект» вариант 100 R из 5 реагентов;
- «ЭФ» вариант 200 из 2 реагентов. Каждый комплект в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете. Комплекты реагентов, в зависимости от формы выпуска, вместе с инструкцией по применению в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете.

7. **Результаты контроля образцов препарата в ГИСК** (см. приложение).

8. **Заключение и рекомендации:** Результаты контроля препарата в ГИСК им.Л.А.Тарасевича свидетельствуют о соответствии качественных и количественных характеристик набора реагентов требованиям ТУ. Набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией

Медунин

продуктов амплификации в агарозном геле «АмплиСенс *Ureaplasma spp.*-FPh» рекомендуется к перерегистрации в Российской Федерации в установленном порядке.

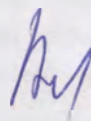
9. Материалы рассмотрены на заседании Ученого Совета ГИСК

протокол № 2 от 12.02.08 г.

10. Решение Ученого Совета ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора:

принять решение о возможности перерегистрации в Российской Федерации в установленном порядке набора реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле «АмплиСенс *Ureaplasma spp.*-FPh» (протокол № 2 от 12.02.08 г.).

Зав.лаб.биохимии и биотехнологии



Р.А. Волкова





УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора

Н.В. Медуницын

19 » 02 2008 г.

ПРОТОКОЛ КОНТРОЛЯ

Серия 26.10.07

- 1. Препарат:** набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агаозном геле "АмплиСенс® *Ureaplasma* spp.-FPh»
- 2. Производитель:** ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора

показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 26.10.07	Требования ТУ	соответствие
подлинность	Визуально	соответствует	Лизирующий р-р, Отмывочный р-р, ТЕ-буфер, Транспортная среда для мазков, ВКО комплексный, ВКО-FL, ОКО, ПЦР-смесь-1- <i>Ureaplasma</i> spp.; ПЦР-смесь-1-R <i>Ureaplasma</i> spp.; ПКО ДНК <i>Ureaplasma</i> spp. – прозрачные бесцветные жидкости; сорбент универсальный - суспензия белого цвета; ПЦР-смесь-2-blue - прозрачная жидкость синего цвета; масло минеральное для ПЦР - прозрачная, бесцветная вязкая жидкость; воск для ПЦР-твердое вещество белого цвета; трис-боратный буфер (ТБЕ) концентрированный с бромидом этидия - прозрачная жидкость оранжевого цвета; агароза для электрофореза ДНК - порошок белого цвета	соответствует
подлинность	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Набор реагентов выявляет ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> , дает отрицательный результат с ДНК ОСО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	Набор реагентов должен выявлять ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> и давать отрицательный результат с ДНК ОСО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	соответствует

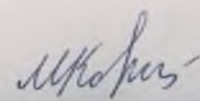
показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 26.10.07	Требования ТУ	соответствие
Специфическая активность и чувствительность	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	соответствует
Упаковка	Визуально	соответствует	Комплекты реагентов, используемые в составе набора: - «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 из 8 реагентов - «ПЦР-комплект» вариант 200 из 6 реагентов или «ПЦР-комплект» вариант 100 R из 5 реагентов; - «ЭФ» вариант 200 из 2 реагентов. Каждый комплект коробке из картона или в полиэтиленовом пакете Комплекты реагентов, зависимости от формы комплектации вместе с инструкцией по применению в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете.	соответствует
Маркировка	Визуально	соответствует	В соответствии с ТУ	соответствует

3. **Заключение** серия №: 26.10.07 набора реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле "АмплиСенс *Ureaplasma* spp-FPh" производства ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора соответствуют требованиям ТУ.

Зав.лаб. биохимии и биотехнологии



Р.А. Волкова





УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора

Н.В. Медуницын

» 02 2008 г.

ПРОТОКОЛ КОНТРОЛЯ

Серия 28.10.07

- 1. Препарат:** набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агаозном геле "АмплиСенс® *Ureaplasma spp.-FPh*"
- 2. Производитель:** ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора

показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 28.10.07	Требования ТУ	соответствие
полнота	Визуально	соответствует	Лизирующий р-р, Отмывочный р-р, ТЕ-буфер, Транспортная среда для мазков, ВКО комплексный, ВКО-FL, ОКО, ПЦР-смесь-1- <i>Ureaplasma</i> spp.; ПЦР-смесь-1-R <i>Ureaplasma</i> spp.; ПКО ДНК <i>Ureaplasma</i> spp. – прозрачные бесцветные жидкости; сорбент универсальный - суспензия белого цвета; ПЦР-смесь-2-blue - прозрачная жидкость синего цвета; масло минеральное для ПЦР - прозрачная, бесцветная вязкая жидкость; воск для ПЦР - твердое вещество белого цвета; трис-боратный буфер (ТБЕ) концентрированный с бромидом этидия - прозрачная жидкость оранжевого цвета; агароза для электрофореза ДНК - порошок белого цвета.	соответствует
полнота	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Набор реагентов выявляет ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> , дает отрицательный результат с ДНК ОКО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	Набор реагентов должен выявлять ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> и давать отрицательный результат с ДНК ОКО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	соответствует

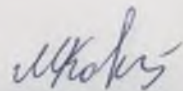
показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 28.10.07	Требования ТУ	соответствие
Специфическая активность и чувствительность	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	соответствует
Упаковка	Визуально	соответствует	Комплекты реагентов, используемые в составе набора: - «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 из 8 реагентов - «ПЦР-комплект» вариант 200 из 6 реагентов или «ПЦР-комплект» вариант 100 R из 5 реагентов; - «ЭФ» вариант 200 из 2 реагентов. Каждый комплект в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете Комплекты реагентов, зависимости от формы комплектации, вместе с инструкцией по применению в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете.	соответствует
Маркировка	Визуально	соответствует	В соответствии с ТУ	соответствует

3. **Заключение** серия №: 28.10.07 набора реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле "АмплиСенс *Ureaplasma* spp-FPh" производства ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора соответствуют требованиям ТУ.

Зав.лаб. биохимии и биотехнологии



Р.А. Волкова





УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора

Н.В. Медуницын

02 2008 г.

ПРОТОКОЛ КОНТРОЛЯ

Серия 24.10.07

- Препарат:** набор реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агаозном геле "АмплиСенс® *Ureaplasma* spp.-FPh»
- Производитель:** ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора

показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 24.10.07	Требования ТУ	соответствие
подлинность	Визуально	соответствует	Лизирующий р-р, Отмывочный р-р, ТЕ-буфер, Транспортная среда для мазков, ВКО комплексный, ВКО-FL, ОКО, ПЦР-смесь-1- <i>Ureaplasma</i> spp.; ПЦР-смесь-1-R <i>Ureaplasma</i> spp.; ПКО ДНК <i>Ureaplasma</i> spp – прозрачные бесцветные жидкости; сорбент универсальный - суспензия белого цвета; ПЦР-смесь-2-blue - прозрачная жидкость синего цвета; масло минеральное для ПЦР - прозрачная, бесцветная вязкая жидкость; воск для ПЦР - твердое вещество белого цвета; трис-боратный буфер (TBE) концентрированный с бромидом этидия-прозрачная жидкость оранжевого цвета; агароза для электрофореза ДНК - порошок белого цвета.	соответствует
подлинность	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Набор реагентов выявляет ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> , дает отрицательный результат с ДНК ОСО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	Набор реагентов должен выявлять ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> и давать отрицательный результат с ДНК ОСО <i>Mycoplasma arginini</i> G-230	соответствует

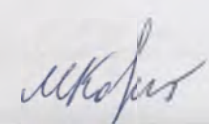
показатели	методы контроля	Результат анализа Серия 24.10.07	Требования ТУ	соответствие
Специфическая активность и чувствительность	Полимеразная цепная реакция Электрофорез в агарозном геле	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Наличие специфической светящейся полосы, соответствующей фрагменту генома <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Ureaplasma parvum</i> на уровне 450 п.н. при концентрации 5×10^3 ЦОЕ/мл ОСО <i>Ureaplasma urealyticum</i>	соответствует
Упаковка	Визуально	соответствует	Комплекты реагентов, используемые в составе набора: - «ДНК-сорб-АМ» вариант 100 из 8 реагентов - «ПЦР-комплект» вариант 200 из 6 реагентов или «ПЦР-комплект» вариант 100 R из 5 реагентов; - «ЭФ» вариант 200 из 2 реагентов. Каждый комплект в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете. Комплекты реагентов, в зависимости от формы комплектации, вместе с инструкцией по применению в коробке из картона или в полиэтиленовом пакете.	соответствует
Маркировка	Визуально	соответствует	В соответствии с ТУ	соответствует

3. **Заключение** серия №: 24.10.07 набора реагентов для выявления ДНК бактерий рода *Ureaplasma* (*U. parvum* и *U. urealyticum*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле "АмплиСенс® *Ureaplasma* spp.-FPh" производства ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора соответствуют требованиям ТУ.

Зав.лаб. биохимии и биотехнологии



Р.А. Волкова





КОПИЯ
С КОПИИ

156

КОПИЯ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
MINISTRY OF HEALTH OF THE RUSSIAN FEDERATION

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
REGISTRATION CERTIFICATE

№ Р №002620/01-2003

от 30.06.2003

Настоящее удостоверение выдано (This certificate has been issued to)

ЦНИИ эпидемиологии Минздрава России, Россия

в соответствии с Законом Российской Федерации «О лекарственных средствах»
(in accordance with the Law of the Russian Federation «On Medicines»)

**АмплиСенс® Ureaplasma urealyticum 450 (Тест-система для выявления ДНК
Ureaplasma urealyticum методом полимеразной цепной реакции)**

торговое название лекарственного средства/субстанции (международное непатентованное название /состав)

trade name of medicine (international nonproprietary name/active ingredients)

**набор диагностический (упаковки комбинированные) /комплекты N1-"ДНК-сорб-А", N2-
"АмплиСенс-100", "АмплиСенс-100-R", N3-"ЭФ-200"/**

лекарственная форма, доза (упаковка) /комплектности/ (medicinal form, dose (package) / additional kit/)

ФСП 42-0115-3120-02

Нормативная документация (technical documentation) №

зарегистрирован в Российской Федерации до 30.06.2008

(is registrated in the Russian Federation upto)

и разрешен для медицинского применения и промышленного выпуска.

Заместитель Министра



А.В. Катлинский

be

be

30 ИЮН 2005

г. я, Сарычихина Елена Юрьевна,
г. Москвы, свидетельствую верность
этой копии с подлинником документа, в последнем
подчисток, приписок, зачеркнутых слов и иных
неоговоренных исправлений или каких-либо
особенностей не оказалось.

Зарегистрировано в реестре за № 21-1692
Взыскано по тарифу 10 рублей.

Нотариус Сарычихина



24 АПР 2007

г. я, Миракина О.Ю.

Нотариус г. Москвы, свидетельствую
верность этой копии с копии документа,
в последнем подчисток, приписок, зачеркнутых
слов и иных неоговоренных исправлений или
каких-либо особенностей не оказалось.

Зарегистрировано в реестре за № 21-1899
Взыскано по тарифу 20 рублей.



Сарычихина