

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. директора Федерального
бюджетного учреждения науки
«Центральный научно-
исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека (ФБУН
ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора)



А.В. Горелов

2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов

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

АмплиСенс®



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

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	8
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	9
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	12
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	13
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	13
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	13
ФОРМА 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F).....	15
СОСТАВ.....	15
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	16
А. Подготовка проб для амплификации	16
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» ..	17
В. Анализ и интерпретация результатов.....	18
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	23
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	24
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	25

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	- внутренний контрольный образец
ГЭ	- геномные эквиваленты
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
дНТФ	- дезоксирибонуклеозидтрифосфат
K1, K2	- положительный контроль ПЦР
K-	- отрицательный контроль ПЦР
ПКО	- положительный контрольный образец
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
pPHK	- рибосомная рибонуклеиновая кислота
РУ	- регистрационное удостоверение
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»
ML	- макролиды
FQ	- фторхинолоны

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL предназначен для выявления мутаций в ДНК *M.genitalium*, связанных с устойчивостью к макролидам (в области V домена гена 23S pPHK) и фторхинолонам (в области QRDR гена ParC), в пробах ДНК, экстрагированных из биологического материала (отделяемое слизистой оболочки уретры, отделяемое цервикального канала, отделяемое влагалища, образцах мочи), методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации.

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

В соответствии с федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» ПЦР-исследование является одним из методов всестороннего обследования пациента, на основании которых

лечащий врач устанавливает диагноз и выбирает мероприятия по лечению пациента.

Показания и противопоказания к применению набора реагентов

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц, инфицированных *M.genitalium*, с целью правильного и своевременного назначения соответствующей схемы терапии инфекции, вызванной *M.genitalium*.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на одновременной амплификации участков ДНК *M.genitalium*, включающих области расположения анализируемых мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M.genitalium* к макролидам и фторхинолонам, и ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО)¹ с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится реакция амплификации участка ДНК при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые

¹ ВКО добавляется на этапе экстракции ДНК *M.genitalium* при исследовании образцов с помощью наборов реагентов для выявления ДНК *M.genitalium* производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Для выявления мутаций используются олигонуклеотидные зонды, комплементарные ДНК *M.genitalium* дикого типа. Такой подход позволяет выявлять максимальный спектр целевых мутаций.

Выявление мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M.genitalium* к макролидам и фторхинолонам, для одного образца проводится в двух пробирках. В первой пробирке определяется ДНК *M.genitalium* (ген *gyrB*) и наличие (или отсутствие) мутаций устойчивости к макролидам (в области V домена гена 23S рРНК), во второй пробирке определяется ДНК ВКО и наличие (или отсутствие) мутаций устойчивости к фторхинолонам (в области QRDR гена *ParC*). Результаты амплификации анализируемых участков генов *M.genitalium*, а также ДНК ВКО регистрируются по трем различным каналам флуоресцентной детекции:

Таблица 1

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

ФОРМЫ КОМПЛЕКАЦИИ

Форма 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F; программное обеспечение АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0

Форма 1 предназначена для проведения амплификации ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме

«реального времени» и позволяет выявлять ДНК в качественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК.

Форма 1 рассчитана на проведение 110 реакций амплификации (всего 55 тестов), включая контроли.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2

Вид исследуемого материала	Комплект для амплификации	Аналитическая чувствительность (предел обнаружения), ГЭ/мл
Проба ДНК, полученная путем экстракции из биологического материала	«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F	1×10^3

ВНИМАНИЕ! Выявление мутаций в ДНК *M.genitalium*, связанных с устойчивостью к макролидам (в области V домена гена 23S рРНК) и фторхинолонам (в области QRDR гена ParC) возможно при концентрации ДНК *M.genitalium* в образце не менее 1×10^3 ГЭ/мл.

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает участки ДНК *M.genitalium*. Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК следующих микроорганизмов/штаммов в концентрации не менее 1×10^7 ГЭ/мл: *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Enterococcus faecium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, HSV (вирус простого герпеса) 1 и 2 типа, CMV (цитомегаловирус), *Atopobium vaginae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Enterobacter cloacae*, а также геномной ДНК человека в концентрации не менее 1×10^7 ГЭ/мл.

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов и ДНК человека неспецифических реакций выявлено не было. Специфичность тестирования подтверждалась методом секвенирования детектируемых продуктов амплификации.

Информация об известных интерферирующих соединениях указана в разделе «Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала».

Повторяемость, воспроизводимость исследования

Повторяемость и воспроизводимость исследования были определены путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы представляли собой смесь стандартных образцов предприятия, содержащих участки ДНК *M.genitalium*, имеющие мутации устойчивости к макролидам и фторхинолонам, в концентрациях 1×10^5 копий/мл. В качестве образцов, не содержащих целевые мутации, были использованы стандартные образцы предприятия, содержащие участки ДНК *M.genitalium* дикого типа в концентрациях 1×10^5 копий/мл.

Условия повторяемости включали в себя тестирование в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Условия воспроизводимости – тестирование в разных лабораториях, разными операторами, с использованием различного оборудования. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Воспроизводимость исследования

Тип образцов	Повторяемость		Воспроизводимость	
	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %
Положительные	20	100	40	100
Отрицательные	20	100	40	100

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для определения диагностической чувствительности набора реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL было протестировано 300 образцов ДНК, содержащих ДНК *M.genitalium*, экстрагированных из отделяемого урогенитального тракта и мочи. Образцы были независимо протестированы набором реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL и референтным методом – секвенированием по Сэнгеру.

Таблица 4

Результаты тестирования набора реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL в сравнении с референтным методом

Тип образцов	Группа антибиотиков	Результаты применения АмплиСенс® <i>M.genitalium</i> -ML/FQ-Resist-FL		Результаты применения референтного метода ²	
				Мутации устойчивости к антибиотикам обнаружены (положительные)	Мутации устойчивости к антибиотикам не обнаружены (отрицательные)
Образцы ДНК, экстрагированные из биологического материала	Макролиды	Всего исследовано 300 образцов	Обнаружены мутации (положительные)	25	0
			Не обнаружены мутации (отрицательные)	0	275
	Фторхинолоны	Всего исследовано 300 образцов	Обнаружены мутации (положительные)	15	0
			Не обнаружены мутации (отрицательные)	0	285

² В качестве референтного метода использовался метод прямого секвенирования по Сэнгеру.

**Диагностические характеристики набора реагентов
АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL**

Тип образцов	Группа антибиотиков	Диагностическая чувствительность ³ (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность ⁴ , (с доверительной вероятностью 95 %)
Образцы ДНК, экстрагированные из биологического материала	Макролиды	100 (88,7-100) %	100 (98,9-100) %
	Фторхинолоны	100 (81,9-100) %	100 (99-100) %

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и 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».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп

³ Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

⁴ Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁵, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).
- Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

⁵ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

- К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.
- При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.
- Информационное письмо о безопасности набора реагентов доступно по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

Специфические воздействия набора реагентов на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки при работе с «ПЦР-комплект» FRT-50 F:
 - а) закручивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) для приготовления реакционной смеси;
 - б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия, или аналогичные).
2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 10, до 100, до 200 и до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С.», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
5. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
6. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
7. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий 3 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия) и другие, рекомендованные Изготовителем).
8. Холодильник от 2 до 8 °C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °C.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служат пробы ДНК, полученные ранее на этапе экстракции из исследуемого материала, в которых обнаружена ДНК *M.genitalium*.

Допускается хранение образцов ДНК *M.genitalium* до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – 1 неделя;
- при температуре от минус 24 до минус 16°С – в течение года.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Допускается транспортирование вышеперечисленного материала при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 суток.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

В ходе анализа рисков были определены следующие особенности состава набора реагентов и конфигурации анализа, которые позволяют исключить влияние потенциально интерферирующих веществ на метод полимеразной цепной реакции:

- использование в качестве исследуемых образцов проб ДНК, полученных ранее на этапе экстракции из исследуемого материала, в которых уже была обнаружена ДНК *M.genitalium*;
- использование специфичных праймеров и флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, комплементарных участкам выявляемых ДНК-мишеней;
- детекция искусственной нуклеотидной последовательности ДНК ВКО в качестве экзогенного внутреннего контроля.

В случае отсутствия сигнала ДНК ВКО и ДНК *M.genitalium*, результат анализа считается невалидным.

В виду указанных особенностей состава набора реагентов и конфигурации анализа, изучение интерферирующих свойств отдельных компонентов биологического образца не требуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- амплификация ДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

ФОРМА 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F) **СОСТАВ**

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F – комплект реагентов для амплификации участков ДНК *M.genitalium* (гены 23S рPHK, ParC и gyrB) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – позволяет проводить ПЦР-исследование в качественном формате. Комплект реагентов включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь-FL Mg/ML	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,6	1 пробирка
ПЦР-смесь-FL Mg/FQ	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,6	1 пробирка
ПЦР-буфер-В	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка
К–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К1 Mg/ML	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К2 Mg/ML	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К1 Mg/FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К2 Mg/FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации (всего 55 тестов), включая контроли.

Реагенты комплекта упакованы отдельно в соответствии с температурой хранения (см. раздел «Хранение»). Комплект реагентов состоит из 2-х частей: 1) температура хранения от 2 до 8 °С; 2) температура хранения от минус 24 до минус 16 °С.

Программное обеспечение АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 в формате Microsoft® Excel для автоматической обработки результатов и руководство оператора.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

А. Подготовка проб для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления двух реакционной смесей. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси-FL Mg/ML** или **ПЦР-смеси-FL Mg/FQ**, **5 мкл ПЦР-буфера-В** и **0,5 мкл полимеразы (TaqF)**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п.7) плюс запас на 1 реакцию.

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

2. Перемешать содержимое пробирок с указанными **ПЦР-смесями-FL**, **ПЦР-буфером-В**, **полимеразой (TaqF)**, осадить капли на вортексе.
3. В двух отдельных пробирках приготовить две реакционные смеси. Смешать необходимое количество **ПЦР-смеси-FL Mg/ML** или **ПЦР-смеси-FL Mg/FQ**, **ПЦР-буфера-В** и **Полимеразы (TaqF)**, осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое (двухкратное) количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб, поставить в два ряда.
5. В каждый ряд пробирок внести по одной из двух приготовленных реакционных смесей по **15 мкл** на пробу. Неиспользованные остатки реакционных смесей выбросить.
6. В две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

ВНИМАНИЕ! Объем экстрагированной пробы ДНК *M.genitalium*, предназначенной для исследования, должен быть не менее **20 мкл**.

ВНИМАНИЕ! При добавлении проб ДНК, экстрагированных с помощью комплектов реагентов для проведения экстракции методом сорбции на силикагеле или магнитной сепарации, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

7. Поставить контрольные реакции.

Для ПЦР-смеси-FL *Mg/ML*:

- а) ДНК-калибратор K1 – в пробирку с реакционной смесью внести 10 мкл K1 *Mg/ML*.
- б) ДНК-калибратор K2 – в пробирку с реакционной смесью внести 10 мкл K2 *Mg/ML*.
- в) отрицательный контроль ПЦР (K–) – в пробирку с реакционной смесью внести 10 мкл K–.

Для ПЦР-смеси-FL *Mg/FQ*:

- а) ДНК-калибратор K1 – в пробирку с реакционной смесью, содержащей ПЦР-смесь-FL *Mg/FQ*, внести 10 мкл K1 *Mg/FQ*.
- б) ДНК-калибратор K2 – в пробирку с реакционной смесью, внести 10 мкл K2 *Mg/FQ*.
- в) отрицательный контроль ПЦР (K–) – в пробирку с реакционной смесью, внести 10 мкл K–.

Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

1. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 6).

Таблица 6

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс-1» для приборов роторного типа

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

Примечание – при одновременном проведении нескольких тестов назначается детекция и по другим используемым каналам.

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.
3. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

В. Анализ и интерпретация результатов

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

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по следующим каналам (см. табл. 7).

Таблица 7

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

Результаты интерпретируют на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, а также с использованием коэффициентов F, K, d Lg(C), которые рассчитываются автоматически ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0.

Интерпретация результатов анализа исследуемых образцов

ПЦР-смесь-FL	Значение порогового цикла (Ct) и коэффициентов F,K, d Lg(C) по каналу для флуорофора			Результат
	FAM	JOE	ROX	
Вариант 1				
Mg/ML	отсутствует	не учитывается	отсутствует	ДНК <i>M.genitalium</i> НЕ обнаружена
Mg/FQ	не учитывается	отсутствует	определено меньше граничного	
Вариант 2				
Mg/ML	определено или отсутствует	не учитывается	определено или отсутствует*	Низкая концентрация ДНК <i>M.genitalium</i> . Невозможно определить присутствие мутаций
Mg/FQ	не учитывается	определено или отсутствует	определено или отсутствует	
Вариант 3				
Mg/ML	1. отсутствует 2. определено и выполняется хотя бы одно из условий: F < граничного значения и/или d Lg(C) > граничного значения и/или K < граничного значения	не учитывается	определено**	ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к МАКРОЛИДАМ
Mg/FQ	не учитывается			
Вариант 4				
Mg/ML	определено или отсутствует	не учитывается	определено**	ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к ФТОРХИНОЛОНАМ
Mg/FQ	не учитывается	1. отсутствует 2. определено и выполняется хотя бы одно из условий: F < граничного значения и/или d Lg(C) > граничного значения и/или K < граничного значения	определено или отсутствует	
Вариант 5				
Mg/ML	определено и выполняются условия: F ≥ граничного значения и d Lg(C) ≤ граничного значения и K ≥ граничного значения	не учитывается	определено**	НЕ ОБНАРУЖЕНО мутаций в участках, ответственных за резистентность к МАКРОЛИДАМ и ФТОРХИНОЛОНАМ.
Mg/FQ	не учитывается			

Вариант 6				
Mg/ML	отсутствует	не учитывается	отсутствует	Невалидный***
Mg/FQ	не учитывается	отсутствует	отсутствует или определено больше - граничного	

* Концентрация *M.genitalium* < 1х10³ ГЭ/мл.
** Концентрация *M.genitalium* ≥ 1х10³ ГЭ/мл.
*** В случае получения **невалидного результата** необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК.

ВНИМАНИЕ! Граничные значения указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапа амплификации ДНК в соответствии с табл. 9 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 9
Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Контроль	Наименование ПЦР-смеси-FL	Значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора		
		FAM	JOE	ROX
К– (отрицательный контроль ПЦР)	Mg/ML	отсутствует	не учитывается	отсутствует
	Mg/FQ	не учитывается	отсутствует	отсутствует
К1 (ДНК-калибратор)	Mg/ML	<u>определено</u> меньше граничного	не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного
	Mg/FQ	не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного
К2 (ДНК-калибратор)	Mg/ML	<u>определено</u>	не учитывается	<u>определено</u>
	Mg/FQ	не учитывается	<u>определено</u>	<u>определено</u>

Возможные ошибки:

1. Для отрицательного контроля ПЦР (К-):
 - а) по каналам для флуорофоров FAM и/или ROX на ПЦР-смеси-FL *Mg/ML* или по каналам для флуорофоров JOE и/или ROX на ПЦР-смеси-FL *Mg/FQ* определено значение порогового цикла (*Ct-1*). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК.
 - б) по каналам для флуорофоров FAM на ПЦР-смеси-FL *Mg/ML* или по каналу для флуорофоров JOE на ПЦР-смеси-FL *Mg/FQ* определено значение порогового цикла (*Ct-2*). Необходимо проверить правильность установки пробирок или обозначения контрольного образца в блоке амплификатора. При повторном получении неудовлетворительного результата необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК.
2. Для ДНК-калибраторов K1, K2 *Mg/ML* отсутствует значение порогового цикла (*Ct-1* и/или *Ct-2*) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 9). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
3. Для ДНК-калибраторов K1, K2 *Mg/FQ* отсутствует значение порогового цикла (*Ct-1* и/или *Ct-2*) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 9). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
4. Коэффициент корреляции R^2 при построении калибровочной прямой менее 0,9. Необходимо проверить правильность заданных концентраций ДНК-калибраторов в соответствии с вкладышем к набору реагентов. При повторном получении неудовлетворительного результата необходимо повторить

амплификацию и детекцию для всех образцов.

5. Показатель эффективности E , при построении калибровочной прямой, менее 70 % или более 120 %. Необходимо проверить правильность заданных концентраций ДНК-калибраторов в соответствии с вкладышем к набору реагентов и правильность выбранного уровня пороговой линии. Если при правильно заданных концентрациях ДНК-калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 15 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-буфера-В и полимеразы (TaqF). ПЦР-буфер-В и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL Mg/ML и ПЦР-смесь-FL Mg/FQ хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: cs@pcr.ru⁶.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

Е.Н. Родионова

Главный врач ФГБУ
«Поликлиника №1»
Управления делами Президента
Российской Федерации



Е.В. Ржевская

⁶ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Код партии



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Изготовитель



Дата изготовления

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 25
(двадцать пять) лист 06

Заместитель директора ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

« 18 » 12 20 19 г.

А.В. Горелов





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



Краткое руководство

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

Форма 1: **REF** Н-3971-1



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

IVD

VER 20.11.19

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

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

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

- Общий объем реакционной смеси:** 25 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).
Каждый исследуемый образец исследуется в 2-х реакционных смесях.
Контроли: для каждой группы амплифицируемых образцов 2 положительных (K1, K2), 1 отрицательный (K-) контроли ПЦР.
- Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления двух реакционных смесей.
 - Разморозить пробирку с **ПЦР-буфером-В** и **полимеразой (TaqF)**.
 - В двух отдельных пробирках приготовить две реакционные смеси.

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

- ВНИМАНИЕ!** Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.
- Отобрать необходимое (двухкратное) количество пробирок или стрипов для амплификации исследуемых и контрольных проб:

Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в каждую пробирку

Внести по 10 мкл	
Проб ДНК, экстрагированных из исследуемых образцов	в две пробирки с различными реакционными смесями для исследуемых образцов <i>При экстракции с помощью сорбционных методов избегать попадания сорбента в реакционную смесь!</i>

Для ПЦР-смеси-FL Mg/ML	
10 мкл K1 Mg/ML	в пробирку для K1
10 мкл K2 Mg/ML	в пробирку для K2
10 мкл K-	в пробирку для K-

Для ПЦР-смеси-FL Mg/FQ	
10 мкл K1 Mg/FQ	в пробирку для K1
10 мкл K2 Mg/FQ	в пробирку для K2
10 мкл K-	в пробирку для K-

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

Программа амплификации «АмплиСенс-1» для приборов роторного типа

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

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

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

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

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

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

Верно

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 3
т.п. лист а

Заместитель директора
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора



А.В. Горелов

«18» 12 20 19 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
бюджетного учреждения науки
«Центральный научно-
исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека (ФБУН
ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора)

« 10 »

В.Г. Акимкин
2019 г.



РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

по применению программного обеспечения
АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist
версия 1.0

АмплиСенс®



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

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА.....	3
ПРИНЦИП РАБОТЫ.....	3
УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ	4
ИЗОБРАЖЕНИЯ НА ЭКРАНЕ МОНИТОРА КОМПЬЮТЕРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОГРАМНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ	5
ВЫПОЛНЕНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	7
СООБЩЕНИЯ ОБ ОШИБКАХ ОПЕРАТОРА ПО	10

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применяются следующие сокращения и обозначения:

ПО	- программное обеспечение, программа
ПЦР	- полимеразная цепная реакция

НАЗНАЧЕНИЕ

Программное обеспечение АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0. предназначено для автоматической обработки результатов при использовании набора реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL. Программное обеспечение (ПО) представляет собой шаблон расчета результатов в формате Microsoft® Excel.

Дата выпуска: 14.10.2019

Класс безопасности: Класс А (невозможны никакие травмы и ущерб здоровью) в соответствии с п.4.3 ГОСТ Р МЭК 62304.

ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 и руководство оператора представлены пользователю на электронном носителе информации или на сайте Изготовителя.

ИСПОЛЪЗУЕМЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

Персональный компьютер с предустановленным пакетом приложений Microsoft® Office 2003 и выше. Системные требования приведены на официальном сайте <http://technet.microsoft.com/ru-ru/library/ee624351.aspx>

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Для работы ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0. необходима программа Microsoft® Excel. ПО использует встроенный язык программирования Microsoft Visual Basic for Applications (MS VBA).

В качестве исходных данных ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0. (далее – программа) использует значения пороговых циклов (*Ct*) и максимальный конечный уровень нормированного флуоресцентного сигнала, полученные ПО прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», для исследуемых образцов, контролей и калибраторов.

Программа проводит автоматическое построение графиков калибровки, расчет концентраций и анализ достоверности результатов.

УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для автоматической обработки результатов необходимо соблюдать следующие условия:

1. Необходимо убедиться, что система безопасности Microsoft® Excel позволяет использовать макросы. В меню **Сервис>Макрос>Безопасность** установите **Средний уровень защиты**.
2. Исходные данные должны быть получены ПО используемого прибора, в соответствии с инструкцией по применению к набору реагентов. Данные могут быть перенесены непосредственно из ПО прибора, либо из файла экспорта данных в Excel.
3. Ячейки раздела **Данные прибора** должны быть заполнены без ошибок, значения *Ct* должны соответствовать образцу и каналу детекции. Обозначения образцов и соответствующих им значений *Ct* должны быть внесены в одинаковой последовательности для двух блоков (для ПЦР-смеси-FL Mg/ML и ПЦР-смеси-FL Mg/FQ).
4. Контрольные образцы в столбце **Обозначение образца** должны быть подписаны в соответствии с таблицей **Обозначение контрольных образцов** (вкладка **Инструкция**). Регистр букв значения не имеет.

ИЗОБРАЖЕНИЯ НА ЭКРАНЕ МОНИТОРА КОМПЬЮТЕРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОГРАМНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Вкладка **Инструкция**

АмплиСенс® M.genitalium-ML/FQ-Resist

Назначение

Программное обеспечение АмплиСенс® M.genitalium-ML/FQ-Resist версия 1.0. предназначено для автоматической обработки результатов при использовании набора реагентов АмплиСенс® M.genitalium-ML/FQ-Resist-FL

Описание результатов

Статус	Описание
Невалидный	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ отсутствует или больше граничного значения, при этом данные по всем каналам спецификации (каналы для флуорофоров FAM и ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML и канал для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ) отсутствуют. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции
M.genitalium не обнаружено	В исследуемом образце значение C_t отсутствует по всем каналам спецификации (по каналам для флуорофоров FAM и ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML; для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ). При этом определено значение C_t меньше граничного по каналу для флуорофора ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
Низкая концентрация возбудителя. Невозможно определить присутствие мутаций	В исследуемом образце рассчитанное значение концентрации по каналу для флуорофоров ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML меньше $1 \cdot 10^3$ ГЭ/мл (10 ГЭ/реакция)
ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к МАКРОЛИДАМ	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML отсутствует
	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML присутствует и при этом выполняется хотя бы одно из условий: $F <$ граничного значения и/или $d \lg(C) >$ граничного значения, и/или $K <$ граничного значения
ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к ФТОРХИНОЛОМ	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ отсутствует
	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ присутствует и при этом выполняется хотя бы одно из условий: $F <$ граничного значения и/или $d \lg(C) >$ граничного значения, и/или $K <$ граничного значения
НЕ ОБНАРУЖЕНО мутаций в участках, ответственных за резистентность к МАКРОЛИДАМ и ФТОРХИНОЛОМ	В исследуемом образце значение C_t по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML присутствует и при этом выполняются следующие условия: $F \geq$ граничного значения, $d \lg(C) \leq$ граничного значения и $K \geq$ граничного значения; значение C_t по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ присутствует и при этом выполняются следующие условия: $F \geq$ граничного значения, $d \lg(C) \leq$ граничного значения и $K \geq$ граничного значения
Контаминация?	Для образца K- присутствует C_t-1 хотя бы по одному из каналов для флуорофоров FAM и/или ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML или для флуорофоров JOE и/или ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
Ошибка!	Для образца K- присутствует C_t-2 или значение в столбце «а» хотя бы по одному из каналов для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML, для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
ОК	Получены правильные результаты для контролей этапа амплификации (калибраторы K1 и K2, K-)
Сбой!	Для образцов калибраторов K1 и K2 отсутствуют C_t-1 и/или C_t-2 хотя бы по одному из каналов детекции

Обозначения

Тип контрольного образца	Возможные обозначения
Калибраторы (K1, K2)	РУС: K1, K2 ЛАТ: K1, C1, K2, C2
Отрицательный контроль амплификации	РУС: K- ЛАТ: K-, NCA

[illegible]

ВЫПОЛНЕНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Проверить, что система безопасности Microsoft® Excel позволяет использовать макросы.
 - Для Microsoft® Excel 2003: во вкладке **Меню** выбрать **Сервис>Макрос>Безопасность** и установить **Средний уровень защиты**.
 - Для Microsoft® Excel 2007: нажать кнопку **Office** в верхнем левом углу и выбрать пункт **Параметры>Центр управления безопасностью>Параметры центра управления безопасностью>Параметры макросов>**. Поставить галочки напротив **Включить все макросы** и **Доверять доступ к объектной модели проектов VBA**.
 - Для Microsoft® Excel 2010 и Microsoft® Excel 2013: в меню **Файл** выбрать пункт **Параметры>Центр управления безопасностью>Параметры центра управления безопасностью>Параметры макросов>**. Поставить галочки напротив **Включить все макросы** и **Доверять доступ к объектной модели проектов VBA**.
2. Открыть файл с программой, принять включение макросов.
3. Во вкладке **Результат** проверить, что активна кнопка **Рассчитать**.
4. Если таблица заполнена данными из предыдущей постановки, ее можно очистить путем нажатия кнопки **Очистить**.
5. В разделе **Параметры** ввести информацию о постановке.
6. В разделе **Данные прибора** заполнить столбец **Обозначение образца** в соответствии с расположением образцов в реакционном блоке и полученными значениями **Ct**.
7. Вставить значения **Ct**, полученные по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL **Mg/ML** при уровне пороговой линии (**Threshold**) = 0,1 в столбец **Ct-1**, а полученные при уровне пороговой линии (**Threshold**) = 0,4 – в столбец **Ct-2**.
8. Вставить значения **Ct**, полученные по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL **Mg/FQ** при уровне пороговой линии (**Threshold**) = 0,1 в столбец **Ct-1**, а полученные при уровне пороговой линии (**Threshold**) = 0,4 – в столбец **Ct-2**.
9. Вставить значения **Ct**, полученные по каналу для флуорофора ROX при уровне пороговой линии (**Threshold**) = 0,1 на ПЦР-смеси-FL **Mg/ML** и на ПЦР-смеси-FL **Mg/FQ**, в столбцы **Ct**.

Данные могут быть перенесены непосредственно из ПО прибора, либо из файла экспорта данных в Excel.

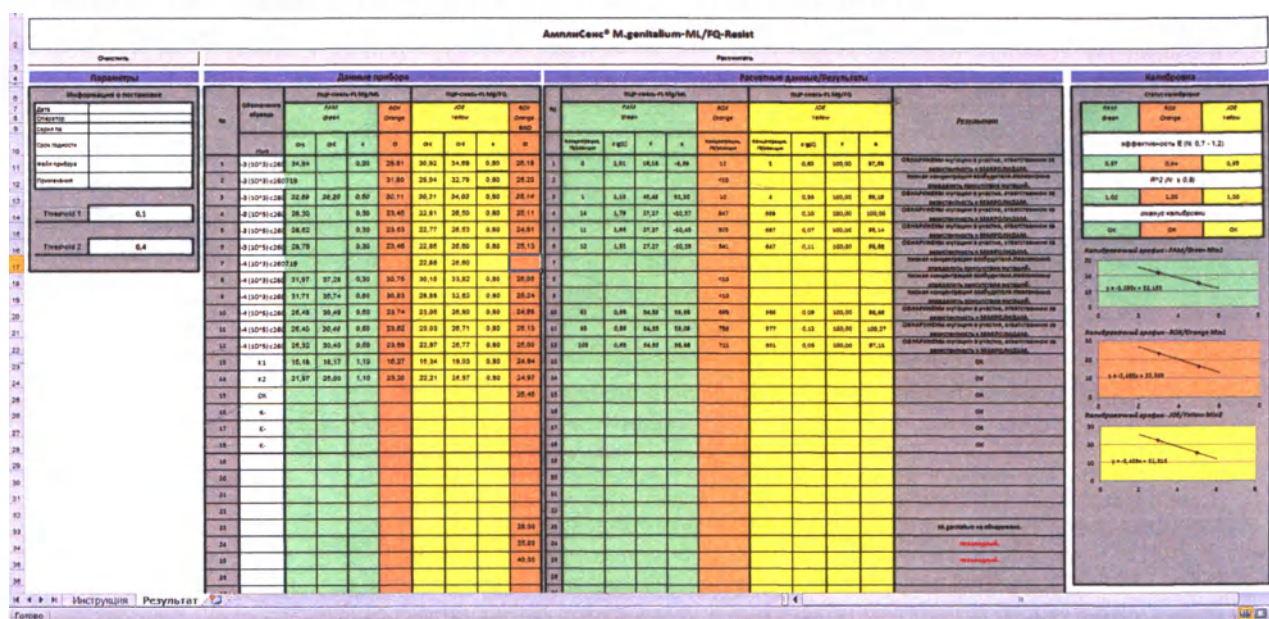
10. Заполнить столбец «а», для этого необходимо последовательно для каждого образца определить максимальный конечный уровень нормированного флуоресцентного сигнала непосредственно в ПО прибора (значения **Норм. Флуоресц.** от 0 до 1,2 единиц).

11. Обозначить контрольные образцы в соответствии с таблицей **Обозначения контрольных образцов** (вкладка **Инструкция**). Регистр букв значения не имеет.

12. Сохранить файл под другим именем.

13. Нажать кнопку **Рассчитать**. Будут отображены расчетные концентрации, коэффициенты $d \lg(C)$, F и K, статусы образцов и полученные калибровочные графики, значения эффективности и коэффициента корреляции.

Результаты исследования выдаются в следующем виде:



В разделе **Расчетные данные/Результаты** будут отображены расчетные концентрации, коэффициенты $d \lg(C)$, F и K.

В ячейках **Концентрация ГЭ/реакция** выводятся концентрации каждой ДНК-мишени, рассчитанные по калибровочным графикам по соответствующему каналу детекции и ПЦР-смеси-FL. В случае концентрации возбудителя ниже 10 ГЭ/реакция или его отсутствия в образце, соответствующее поле остается пустым. В случае концентрации возбудителя ниже 10 ГЭ/реакция по каналу для флуорофора ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML выдается результат **<10 (ГЭ/реакция)**.

В ячейках d Ig(C), F и K выводятся рассчитанные по калибровочным графикам, значениям Ct и конечным уровням флуоресценции соответствующие коэффициенты по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML и по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ. В случае концентрации возбuditеля ниже 10 ГЭ/реакция или его отсутствия в образце, соответствующее поле остается пустым.

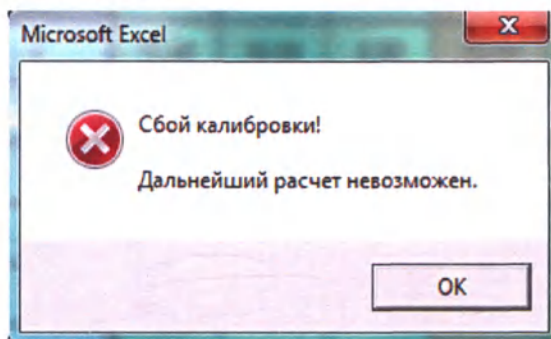
В столбце **Результат** будет отображен статус образцов.

Варианты результатов для исследуемых проб и контролей, выдаваемые в столбце **Результат**:

Статус	Описание
Невалидный	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ отсутствует или больше граничного значения, при этом данные по всем каналам спецификации (каналы для флуорофора FAM и ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML и канал для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ) отсутствуют. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции
<i>M.genitalium</i> не обнаружено	В исследуемом образце значение Ct отсутствует по всем каналам спецификации (по каналам для флуорофоров FAM и ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML; для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ). При этом определено значение Ct меньше граничного по каналу для флуорофора ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
Низкая концентрация возбuditеля. Невозможно определить присутствие мутаций	В исследуемом образце рассчитанное значение концентрации по каналу для флуорофоров ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML меньше $1 \cdot 10^3$ ГЭ/мл (10 ГЭ/реакция)
ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к МАКРОЛИДАМ	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML отсутствует
	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML присутствует и при этом выполняется хотя бы одно из условий: F < граничного значения и/или d Ig(C) > граничного значения, и/или K < граничного значения
ОБНАРУЖЕНЫ мутации в участке, ответственном за резистентность к ФТОРХИНОЛОНАМ	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ отсутствует
	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ присутствует и при этом выполняется хотя бы одно из условий: F < граничного значения и/или d Ig(C) > граничного значения, и/или K < граничного значения
НЕ ОБНАРУЖЕНО мутаций в участках, ответственных за резистентность к МАКРОЛИДАМ и ФТОРХИНОЛОНАМ	В исследуемом образце значение Ct по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg/ML присутствует и при этом выполняются следующие условия: коэффициент F $\geq$ граничного значения и d Ig(C) $\leq$ граничного значения и K $\geq$ граничного значения; значение Ct по каналу для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ присутствует и при этом выполняются следующие условия: коэффициент F $\geq$ граничного значения, d Ig(C) $\leq$ граничного значения и K $\geq$ граничного значения
Контаминация?	Для образца К- присутствует Ct-1 хотя бы по одному из каналов для флуорофоров FAM и/или ROX на ПЦР-смеси-FL Mg-ML или для флуорофоров JOE и/или ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
Ошибка!	Для образца К- присутствует Ct-2 или значение в столбце «а» хотя бы по одному из каналов для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-FL Mg-ML, для флуорофора JOE на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ
ОК	Получены правильные результаты для контролей этапа амплификации (калибраторы K1 и K2, К-)
Сбой!	Для образцов калибраторов K1 и K2 отсутствуют Ct (Ct-1 и/или Ct-2) хотя бы по одному из каналов детекции

Раздел **Калибровка** предназначен для вывода калибровочных графиков, значений коэффициентов корреляции (R^2) и эффективности амплификации (E), статуса калибровки.

Если для калибраторов K1 и K2 значения C_t внесены неправильно, отсутствуют или показатель эффективности при построении калибровочной прямой менее 70 % или более 120 % и/или значение коэффициента корреляции (R^2) менее 0,9, то программа выдает сообщение:

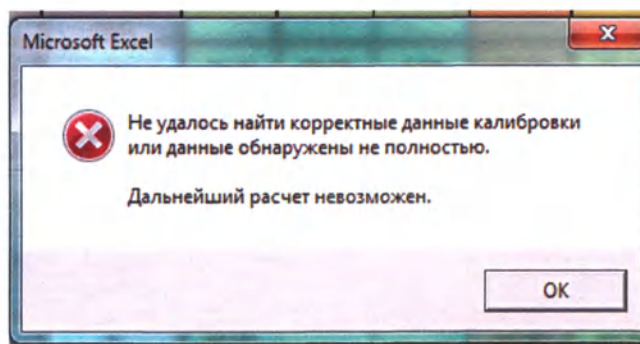


при этом в поле **Калибровка** в таблице **Статус калибровки** в ячейке соответствующего канала выводится сообщение **Сбой!(Эфф.)**.

ВНИМАНИЕ! Информация о принципе интерпретации результатов количественного исследования, результатах для контролей количественного ПЦР-исследования и возможные ошибки приведены в инструкции по применению набора реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL.

СООБЩЕНИЯ ОБ ОШИБКАХ ОПЕРАТОРА ПО

1. Если отсутствует какой-либо калибратор или данные прибора, ПО выдает сообщение:



при этом, если отсутствуют данные прибора для калибраторов в столбце **Результат** дополнительно выводится сообщение **Сбой!**

Необходимо проверить наличие значений C_t для калибраторов, а также правильность их названия.

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 10

секрет

лист сб

Директор ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии
Роспотребнадзора

В.Г. Акимкин

« 18 » 12 20 19 г.



М.П.

ФБУН «ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

111123, Москва, ул. Новогиреевская 3А тел. (495) 974-96-42, факс (495) 305-54-23, e-mail: obtk@pcr.ru

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

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

Форма 1	LOT 01.11.19	 2019-11-01
		 2021-02-01

ТУ 21.20.23-397-01897593-2019

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результаты контроля
Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Положительный результат для образца К1 (ДНК-калибратор)	Определено значение <i>Ct</i> менее граничного по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Определено значение <i>Ct</i> менее граничного по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Положительный результат для образца К2 (ДНК-калибратор)	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Коэффициент эффективности (Е) при построении калибровочной прямой-	Значение укладывается в диапазон (70-120 %)	соответствует
Коэффициент корреляции (R^2) при построении калибровочной прямой-	Значение не менее 0,9	соответствует

Примечание – указанные нормы соответствуют результату «ОК», выдаваемому ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплектации
ПЦР-смесь-FL <i>Mg</i> /ML	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-смесь-FL <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-буфер-В	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 <i>Mg</i> /ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 <i>Mg</i> /ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F при получении разуконплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-буфера-В и полимеразы (TaqF). ПЦР-буфер-В и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL *Mg*/ML и ПЦР-смесь-FL *Mg*/FQ хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи
Руководитель ГСК

01.11.19



(Козлова Е.А.)
(Ф.И.О.)

Директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

« 01 » 11 2019 г.



В.Г. Акимки

Форма 1: REF H-3971-1

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

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

Форма 1

LOT A01.11.19

2019-11-01
2021-02-01

ТУ 21.20.23-397-01897593-2019

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результат контроля
Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML	соответствует
	Значение Ct отсутствует по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ	соответствует
Положительный результат для образца K1 (ДНК-калибратор)	Определено значение Ct менее граничного по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML	соответствует
	Определено значение Ct менее граничного по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ	соответствует
Положительный результат для образца K2 (ДНК-калибратор)	Определено значение Ct по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/ML	соответствует
	Определено значение Ct по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL Mg/FQ	соответствует
Коэффициент эффективности (E) при построении калибровочной прямой-	Значение укладывается в диапазон (70-120 %)	соответствует
Коэффициент корреляции (R ²) при построении калибровочной прямой-	Значение не менее 0,9	соответствует

Примечание – указанные нормы соответствуют результату «ОК», выдаваемому ПО АмплиСенс® M.genitalium-ML/FQ- версия 1.0

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплекта
ПЦР-смесь-FL Mg/ML	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-смесь-FL Mg/FQ	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-буфер-В	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
K1 Mg/ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
K2 Mg/ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
K1 Mg/FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
K2 Mg/FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнере содержащих хладозлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F при получении разуконтировать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение. Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-Б В и полимеразы (TaqF). ПЦР-буфер-В и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL Mg/ML и ПЦР-смесь-FL Mg/FQ хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи 01.11.19
Руководитель ГКК



(Козлова Е.А.)
(Ф.И.О.)

Директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

« 01 » 11 20 19



ФБУН «ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

111123, Москва, ул. Новогиреевская 3А тел. (495) 974-96-42, факс (495) 305-54-23, e-mail: obtk@pcr.ru

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

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

Форма 1	LOT B01.11.19	 2019-11-01  2021-02-01
---------	---------------	--

ТУ 21.20.23-397-01897593-2019

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результаты контроля
Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Положительный результат для образца К1 (ДНК-калибратор)	Определено значение <i>Ct</i> менее граничного по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Определено значение <i>Ct</i> менее граничного по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Положительный результат для образца К2 (ДНК-калибратор)	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /ML	соответствует
	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров JOE, ROX на ПЦР-смеси-FL <i>Mg</i> /FQ	соответствует
Коэффициент эффективности (Е) при построении калибровочной прямой-	Значение укладывается в диапазон (70-120 %)	соответствует
Коэффициент корреляции (R^2) при построении калибровочной прямой-	Значение не менее 0,9	соответствует

Примечание – указанные нормы соответствуют результату «ОК», выдаваемому ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплектации
ПЦР-смесь-FL <i>Mg</i> /ML	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-смесь-FL <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового	соответствует	1
ПЦР-буфер-В	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 <i>Mg</i> /ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 <i>Mg</i> /ML	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 <i>Mg</i> /FQ	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F при получении разуконплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-буфера-В и полимеразы (TaqF). ПЦР-буфер-В и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL *Mg*/ML и ПЦР-смесь-FL *Mg*/FQ хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи 01.11.19
Руководитель ГКК



(Козлова Е.А.)
(Ф.И.О.)

Директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

«18» 12 2019 г.



В.Г. Акимки

Форма 1 REF H-3971-1

Набор реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL рекомендуется использовать после обнаружения ДНК *M.genitalium* в исследуемых образцах. Анализ всех полученных результатов проводится исключительно с помощью программного обеспечения АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist.

Настройки для приборов роторного типа**Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q**

Канал	Calibrate /Gain Optimisation / Опт.уровня сигн.	Dynamic tube / Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	Threshold / Порог		More Settings/ Outlier Removal/ Устранения выбросов
				Ct-1*	Ct-2*	
FAM/Green	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
JOE/Yellow	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
ROX/Orange	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1		5 %

* Выставляется Threshold / Порог - Ct-1, затем полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов.

Далее выставляется Threshold / Порог - Ct-2, полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов.

Характеристика калибраторов

Калибратор	Концентрация, копий ДНК/реакция		
	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
K1 Mg/ML	100000	-	100000
K2 Mg/ML	1000		1000
K1 Mg/FQ	-	100000	200
K2 Mg/FQ		1000	200

Граничные значения порогового цикла (Ct) и нормы

ПЦР-смесь-FL	Образец	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	K1 Mg/ML	30	-	30
	K2 Mg/ML	Ct определено		Ct определено
	K-	Ct отсутствует		Ct отсутствует
	Исследуемые образцы	Граничные значения не заданы		Граничные значения не заданы
Mg/FQ	K1 Mg/FQ	-	30	30
	K2 Mg/FQ		Ct определено	Ct определено
	K-		Ct отсутствует	Ct отсутствует
	Исследуемые образцы		Граничные значения не заданы	30

Граничные значения коэффициентов: F, K, d Lg(C)

ПЦР-смесь-FL	Коэффициент	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	d Lg(C)	0,6	-	Граничные значения не заданы
	K	70		
	F	15		
Mg/FQ	d Lg(C)	-	1,0	Граничные значения не заданы
	K		66	

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
ВКЛАДЫШ

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

Форма 1: **REF** H-3971-1

LOT A01.11.19

Набор реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL рекомендуется использовать после обнаружения ДНК *M.genitalium* в исследуемых образцах. Анализ всех полученных результатов проводится исключительно с помощью программного обеспечения АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist.

Настройки для приборов роторного типа

Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate /Gain Optimisation / Опт.уровня сигн.	Dynamic tube / Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	Threshold / Порог		More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
				Ct-1*	Ct-2*	
FAM/Green	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
JOE/Yellow	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
ROX/Orange	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1		5 %

* Выставляется Threshold / Порог - Ct-1, затем полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов. Далее выставляется Threshold / Порог - Ct-2, полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов.

Характеристика калибраторов

Калибратор	Концентрация, копий ДНК/реакция		
	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
K1 Mg/ML	100000	-	100000
K2 Mg/ML	1000		1000
K1 Mg/FQ	-	100000	200
K2 Mg/FQ		1000	200

Граничные значения порогового цикла (Ct) и нормы

ПЦР-смесь-FL	Образец	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	K1 Mg/ML	30	-	30
	K2 Mg/ML	Ct определено		Ct определено
	K-	Ct отсутствует		Ct отсутствует
	Исследуемые образцы	Граничные значения не заданы		Граничные значения не заданы
Mg/FQ	K1 Mg/FQ	-	30	30
	K2 Mg/FQ		Ct определено	Ct определено
	K-		Ct отсутствует	Ct отсутствует
	Исследуемые образцы		Граничные значения не заданы	30

Граничные значения коэффициентов: F, K, d Lg(C)

ПЦР-смесь-FL	Коэффициент	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	d Lg(C)	0,6	-	Граничные значения не заданы
	K	70		
	F	15		
Mg/FQ	d Lg(C)	-	1,0	Граничные значения не заданы
	K		66	
	F		15	

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
ВКЛАДЫШ

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

Форма 1: **REF** H-3971-1

LOT B01.11.19

Набор реагентов АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist-FL рекомендуется использовать после обнаружения ДНК *M.genitalium* в исследуемых образцах. Анализ всех полученных результатов проводится исключительно с помощью программного обеспечения АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist.

Настройки для приборов роторного типа

Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate /Gain Optimisation / Опт.уровня сигн.	Dynamic tube / Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	Threshold / Порог		More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
				Ct-1*	Ct-2*	
FAM/Green	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
JOE/Yellow	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1	0,4	5 %
ROX/Orange	от 5 до 10 FI	включена	включена	0,1		5 %

* Выставляется Threshold / Порог - Ct-1, затем полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов.

Далее выставляется Threshold / Порог - Ct-2, полученные значения Ct переносятся в ПО АмплиСенс® *M.genitalium*-ML/FQ-Resist версия 1.0 для дальнейших расчетов.

Характеристика калибраторов

Калибратор	Концентрация, копий ДНК/реакция		
	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
K1 Mg/ML	100000	-	100000
K2 Mg/ML	1000		1000
K1 Mg/FQ	-	100000	200
K2 Mg/FQ		1000	200

Граничные значения порогового цикла (Ct) и нормы

ПЦР-смесь-FL	Образец	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	K1 Mg/ML	30	-	30
	K2 Mg/ML	Ct определено		Ct определено
	K-	Ct отсутствует		Ct отсутствует
	Исследуемые образцы	Граничные значения не заданы		Граничные значения не заданы
Mg/FQ	K1 Mg/FQ	-	30	30
	K2 Mg/FQ		Ct определено	Ct определено
	K-		Ct отсутствует	Ct отсутствует
	Исследуемые образцы		Граничные значения не заданы	30

Граничные значения коэффициентов: F, K, d Lg(C)

ПЦР-смесь-FL	Коэффициент	FAM/Green	JOE/Yellow	ROX/Orange
Mg/ML	d Lg(C)	0,6	-	Граничные значения не заданы
	K	70		
	F	15		
Mg/FQ	d Lg(C)	-	1,0	
	K		66	
	F		45	

Верно
Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 3

В.Г. Акимкин

20 19 г.

