

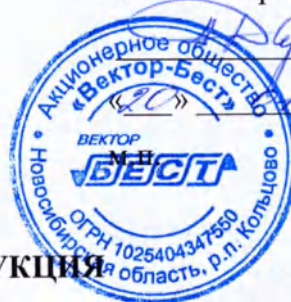
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления ДНК возбудителей инфекций,

— передающихся половым путём

(*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*,

Trichomonas vaginalis, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*,

цитомегаловируса, вируса простого герпеса 1 и 2 типов, вирусов папилломы человека

16 и 18 типов), методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

«РеалБест ПЦР-12 ИППП»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления ДНК возбудителей инфекций, передающихся половым путём (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, цитомегаловируса, вируса простого герпеса 1 и 2 типов, вирусов папилломы человека 16 и 18 типов), методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «РеалБест ПЦР-12 ИППП» предназначен для качественного выявления ДНК возбудителей инфекций, передающихся половым путём: *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, цитомегаловируса (ЦМВ), вируса простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1,2), вирусов папилломы человека 16 и 18 типов (ВПЧ 16/18), выделенной из клинических образцов (соскобов эпителиальных клеток, образцов мочи) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени. Набор может быть использован при диагностике инфекций, передающихся половым путём.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранного участка ДНК возбудителей инфекций в ходе проведения ПЦР.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: Директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой. В основе регистрации процесса амплификации лежит измерение сигналов флуоресценции в каждом цикле ПЦР. Увеличение сигналов флуоресценции происходит благодаря использованию гибридационного ДНК-зонда, специфичного для выбранного участка ДНК возбудителя инфекции, который в ходе реакции связывается с одной из цепей ДНК, обеспечивая также дополнительную специфичность метода. ДНК-зонд содержит на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце – гаситель флуоресценции, значительно снижающий интенсивность флуоресценции. В ходе полимеразного синтеза комплементарной цепи, благодаря 5'-3'-нуклеазной активности Taq ДНК-полимеразы, зонд расщепляется с 5'-конца и происходит разобщение красителя и гасителя, приводящее по мере накопления продукта реакции к возрастанию сигнала флуоресценции. При этом измеряемая интенсивность флуоресценции зависит от количества образовавшихся специфических ампликонов и динамика нарастания флуоресценции определяется исходным количеством целевой ДНК в образце.

Учёт эффективности выделения ДНК из образцов обеспечивается выделением ДНК возбудителей инфекций из исследуемых образцов совместно с предварительно внесённым внутренним контрольным образцом (ВКО).

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) <i>Описание.</i>	Количество
Положительный контрольный образец универсальный (ПКО) <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05%)</i>	2 пробирки по 1 мл
Готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС 1, 2, 3, 4, 5, 6) <i>Лиофилизированная</i>	6 планшетов по 96 пробирок
Оптическая пленка	6 листов

2.3. Условия применения.

Аналитические и диагностические характеристики набора были валидированы при выделении ДНК из клинических образцов (соскобов эпителиальных клеток, образцов мочи) с использованием наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 3», «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг» и «Лизирующий раствор».

Набор применяется с регистрирующими амплификаторами планшетного типа: «CFX96», «iQ5 iCycler» (фирма Bio-Rad, США); «ДТ-96», «ДТпрайм», «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные образцы.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность:

Чувствительность выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, ЦМВ, ВПГ-1,2, ВПЧ 16/18 – не более 100 копий в пробе. Определяется по стандартным образцам предприятия. Образцы с содержанием ДНК соответствующего возбудителя 100 копий в пробе в 100 % случаев дают положительный результат.

3.2. Аналитическая специфичность:

Для оценки аналитической специфичности были проведены проверки с ДНК бактерий, грибов и вирусов, как определяемых набором «РеалБест ПЦР-12 ИППП», так и других, на перекрестную реактивность. Перекрестно реагирующих образцов, содержащих ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, ЦМВ, ВПГ-1,2, ВПЧ 16/18, *Lactobacillus species*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella species*, *Mobiluncus curtisii*, *Mobiluncus mulieris*, ВЭБ, по данным, полученным при исследованиях в рамках клинико-лабораторных испытаний, обнаружено не было.

Был проведен *in silico* анализ последовательностей праймеров и зондов по базам последовательностей микроорганизмов и вирусов, которые могут присутствовать в урогенитальном тракте человека – как определяемых набором «РеалБест ПЦР-12 ИППП» (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, ЦМВ, ВПГ-1,2, ВПЧ 16/18), так и других (*Lactobacillus species*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella species*, *Mobiluncus curtisii*, *Mobiluncus mulieris*, ВЭБ, ВПЧ разных типов и т.д.). Возможность перекрестных реакций исключена.

3.3. Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*: клинические испытания, проведенные на 50 положительных образцах, содержащих ДНК *Chlamydia trachomatis*, показали 100 % чувствительность (интервал 92,9 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Ureaplasma species*: клинические испытания, проведенные на 145 положительных образцах, содержащих ДНК *Ureaplasma species*, показали 100 % чувствительность (интервал 97,5 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Mycoplasma hominis*: клинические испытания, проведенные на 54 положительных образцах, содержащих ДНК *Mycoplasma*

hominis, показали 100 % чувствительность (интервал 93,4 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Mycoplasma genitalium*: клинические испытания, проведенные на 49 положительных образцах, содержащих ДНК *Mycoplasma genitalium*, показали 100 % чувствительность (интервал 92,8 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Trichomonas vaginalis*: клинические испытания, проведенные на 43 положительных образцах, содержащих ДНК *Trichomonas vaginalis*, показали 100 % чувствительность (интервал 91,8 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Neisseria gonorrhoeae*: клинические испытания, проведенные на 44 положительных образцах, содержащих ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, показали 100 % чувствительность (интервал 92,0 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Candida albicans*: клинические испытания, проведенные на 51 положительном образце, содержащих ДНК *Candida albicans*, показали 100 % чувствительность (интервал 93,0 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК *Gardnerella vaginalis*: клинические испытания, проведенные на 114 положительных образцах, содержащих ДНК *Gardnerella vaginalis*, показали 100 % чувствительность (интервал 96,8 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК ЦМВ: клинические испытания, проведенные на 51 положительных образцах, содержащих ДНК ЦМВ, показали 100 % чувствительность (интервал 93,0 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК ВПГ-1,2: клинические испытания, проведенные на 48 положительных образцах, содержащих ДНК ВПГ-1,2, показали 100 % чувствительность (интервал 92,6 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК ВПЧ-16: клинические испытания, проведенные на 53 положительных образцах, содержащих ДНК ВПЧ-16, показали 100 % чувствительность (интервал 93,3 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая чувствительность выявления ДНК ВПЧ-18: клинические испытания, проведенные на 40 положительных образцах, содержащих ДНК ВПЧ-18, показали 100 % чувствительность (интервал 91,2 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

3.4. Диагностическая специфичность выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*: клинические испытания, проведенные на 282 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Chlamydia*

trachomatis, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Ureaplasma species*: клинические испытания, проведенные на 187 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Ureaplasma species*, показали 100 % специфичность (интервал 98,1 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Mycoplasma hominis*: клинические испытания, проведенные на 278 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Mycoplasma hominis*, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Mycoplasma genitalium*: клинические испытания, проведенные на 283 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Mycoplasma genitalium*, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Trichomonas vaginalis*: клинические испытания, проведенные на 289 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Trichomonas vaginalis*, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Neisseria gonorrhoeae*: клинические испытания, проведенные на 288 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Candida albicans*: клинические испытания, проведенные на 281 отрицательном образце, не содержащих ДНК *Candida albicans*, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК *Gardnerella vaginalis*: клинические испытания, проведенные на 218 отрицательных образцах, не содержащих ДНК *Gardnerella vaginalis*, показали 100 % специфичность (интервал 98,3 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК ЦМВ: клинические испытания, проведенные на 281 отрицательном образце, не содержащих ДНК ЦМВ, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК ВПГ-1,2: клинические испытания, проведенные на 284 отрицательных образцах, не содержащих ДНК ВПГ-1,2, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК ВПЧ-16: клинические испытания, проведенные на 279 отрицательных образцах, не содержащих ДНК ВПЧ-16, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

Диагностическая специфичность выявления ДНК ВПЧ-18: клинические испытания, проведенные на 292 отрицательных образцах, не содержащих ДНК ВПЧ-18, показали 100 % специфичность (интервал 98,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

3.5. Воспроизводимость результатов: клинические испытания, проведенные на 332 образцах, содержащих и не содержащих ДНК выявляемых набором возбудителей инфекций, с использованием двух серий набора реагентов, показали 100 % межсерийную воспроизводимость результатов. При тестировании в двух независимых постановках двумя разными операторами образцов в 8 повторах каждый внутрипостановочная и межпостановочная воспроизводимость результатов составила 100 %. При тестировании двумя разными сериями образцов в 8 повторах каждый межсерийная воспроизводимость результатов составила 100 %. Коэффициент вариации Ct не более 2 %.

3.6. Потенциально интерферирующие вещества.

В клинических испытаниях показано отсутствие влияния потенциально интерферирующих веществ в образцах соскобов эпителиальных клеток (кровь до 0,5%) и образцах мочи (билирубин до 0,2 мг/мл (350 мкмоль/л), глюкоза до 55 ммоль/л, белок до 3 г/л) на результаты анализа методом ПЦР набором «РеалБест ПЦР-12 ИППП».

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. ПКО содержит натрия азид в концентрации, указанной в п. 2.2 «Состав набора».

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.5. При работе с набором необходимо надевать одноразовые медицинские перчатки, использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.6. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова», 0,2% раствор «ДП-2Т»; 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– амплификатор с детекцией флуоресценции в режиме реального времени (с каналами детекции: «FAM», «HEX», «ROX»):

«CFX96», «iQ5 iCycler» (фирма «Bio-Rad», США), «ДТ-96», «ДТпрайм», «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);

– бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, ЗАО «Ламинарные системы», Россия);

– холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;

– встряхиватель для пробирок (например, Bio-Vortex V-1 plus, фирма «BioSan», Латвия);

– мини-шейкер, обеспечивающий частоту вращения 1200-1800 об/мин (например, «PSU-2Т», фирма «BioSan», Латвия или «BioShake iQ» фирма «Analytik Jena», Германия);

– дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (например, фирма «Biohit», Финляндия);

– одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером (например, фирма «Sartorius», Германия);

– перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (например, перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);

- штативы для микропробирок вместимостью 2 мл и 0,2 мл (например, фирма SSI, США);
- контейнер для сброса отходов (например, «Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ»);
- нож канцелярский или ножницы.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Пациент должен быть заранее проинструктирован о правилах подготовки к сдаче биоматериала: за 2-3 дня до взятия биоматериала необходимо исключить использование влагалищных свечей, гелей и мазей, а также воздержаться от половых контактов. Не рекомендуется сдавать материал во время приема антибактериальных препаратов. Не проводится взятие материала у женщин во время менструации. При заборе биологического материала из урогенитального тракта не допускать попадания слизи и крови в пробу.

Более подробно с правилами забора биоматериала можно ознакомиться в Методических рекомендациях по лабораторным тестам для студентов медицинских учебных заведений, лечащих врачей, сотрудников процедурных кабинетов и клинико-диагностических лабораторий «Преаналитический этап лабораторных исследований» Министерства образования и науки (сост.: Кочетов А. Г. с соавт - Москва: РУДН, 2012. – 251 с.).

Для анализа используется ДНК, выделенная из клинических образцов (соскобов эпителиальных клеток, образцов мочи) с использованием наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 3», «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг» и «Лизирующий раствор» производства АО «Вектор-Бест» согласно инструкции по применению соответствующего набора.

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения ДНК, должна содержать ПКО, который является компонентом данного набора, и отрицательный контрольный образец (ОКО), который является компонентом набора для выделения ДНК.

Выделенную ДНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

6.2.1. Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре (18-26) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа или ножниц отрезать необходимое количество

(по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: 1 ОКО и 1 ПКО) пробирок с ГРС. Для исследования каждого образца требуются 6 пробирок одного горизонтального ряда (см. Рисунок). Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

Внимание! Неиспользованные пробирки с ГРС упаковать в пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.

После первого вскрытия упаковки ГРС хранить при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

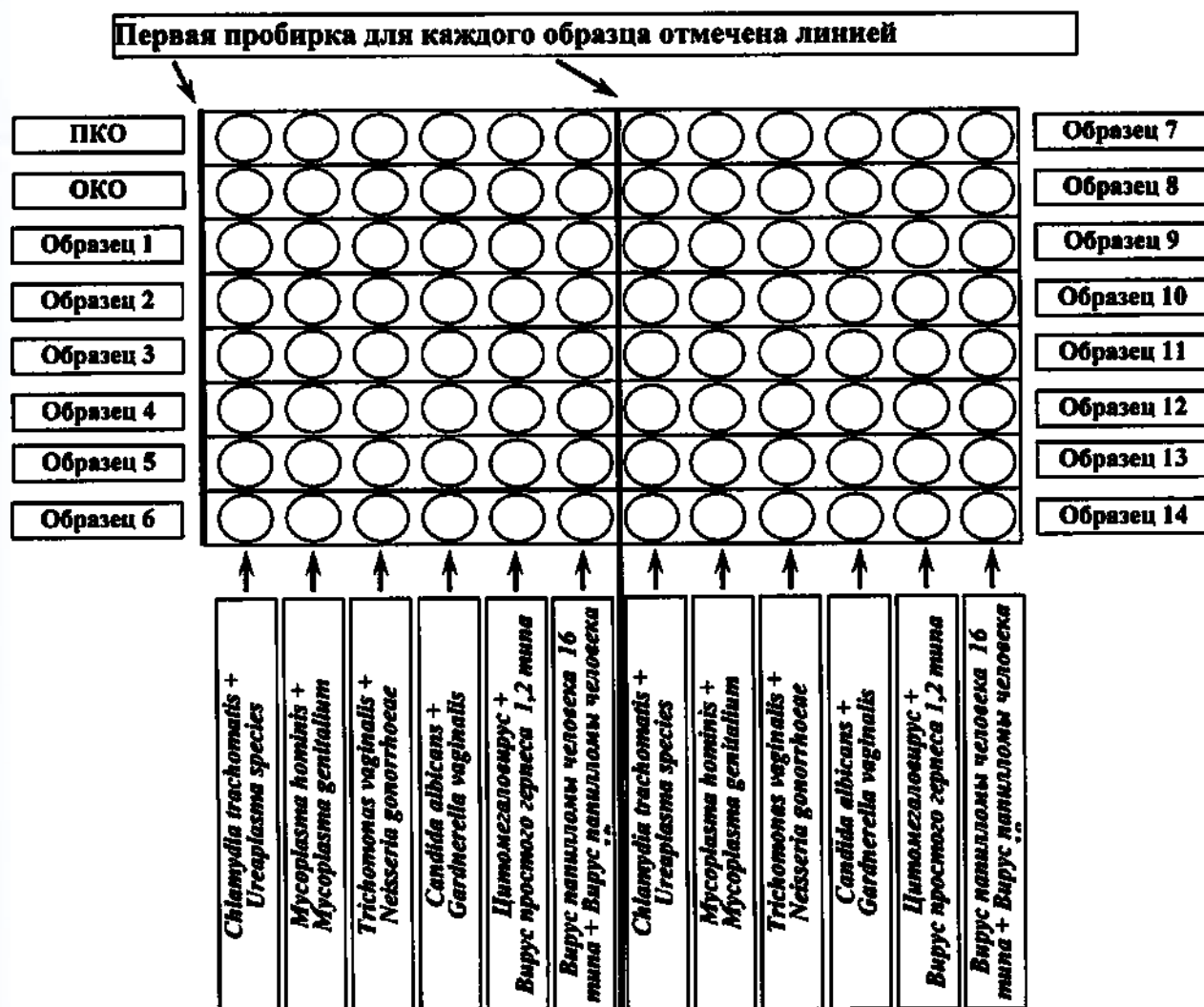
6.2.2. ПКО после вскрытия пробирки хранить при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество (по числу подготовленных образцов, включая контрольные образцы) пробирок с ГРС пронумеровать и расположить в штативе (см. Рисунок).

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!

Рисунок



7.2. В каждую пробирку дозатором, используя для каждого образца индивидуальный наконечник с фильтром, внести по 50 мкл раствора выделенной ДНК. Заклеить пробирки оптической плёнкой.

Для повышения эффективности и скорости смешения компонентов рекомендуется перемешать содержимое пробирок в мини-шейкере с частотой вращения 1200-1800 об/мин в течение 1 минуты.

7.3. Поместить пробирки в амплификатор.

7.4. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфических фрагментов ДНК возбудителей инфекций и ВКО и детекции сигналов флуоресценции в соответствии с инструкцией к прибору.

Протокол проведения реакции амплификации:

1 стадия: 50 °С – 2 минуты;

2 стадия: 95 °С – 2 минуты;

3 стадия: 50 циклов (94 °С – 10 секунд, 60 °С – 20 секунд)*.

*Измерение флуоресценции проводить при 60 °С.

7.5. Выбрать каналы детекции результатов амплификации ДНК возбудителей инфекций и ВКО:

«FAM» – для регистрации сигнала ДНК ВКО;

«HEX» и «ROX» – для регистрации процесса амплификации ДНК возбудителей инфекций (см. Таблицу).

Таблица 1

Номер пробирки	Инфекция	Канал
1	<i>Chlamydia trachomatis</i>	HEX
	<i>Ureaplasma species</i>	ROX
2	<i>Mycoplasma hominis</i>	HEX
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	ROX
3	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ROX
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	HEX
4	<i>Candida albicans</i>	ROX
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	HEX
5	Цитомегаловирус	ROX
	Вирус простого герпеса 1, 2 типа	HEX
6	Вирус папилломы человека 16 типа	HEX
	Вирус папилломы человека 18 типа	ROX

7.6. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми образцами и контрольными образцами, согласно инструкции к используемому прибору.

7.7. Запустить программу и провести реакцию амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов.

8.1.1. В ПКО программа должна фиксировать:

- нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять значение порогового цикла C_t ВКО;

- нарастание сигнала амплификации ДНК возбудителей инфекций (каналы «HEX» и «ROX») (см. Таблицу) и определять значение порогового цикла C_t ПКО;

8.1.2. В ОКО программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять C_t ВКО, при этом программа не должна регистрировать нарастания сигнала специфического продукта амплификации ДНК по каналам «HEX» и «ROX».

Если для ОКО значение C_t по каналам «ROX» и/или «HEX» меньше или равно 40 (в ГРС-4 по каналу «HEX» меньше или равно 32, по каналу «ROX» меньше или равно 35), то это свидетельствует о наличии контаминации (см. п. 8.2.4).

8.1.3. В каждом исследуемом образце программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять C_t ВКО.

8.2. Учёт результатов.

8.2.1. Вычислить $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ как среднее значение C_t ВКО всех анализируемых образцов (включая ПКО и ОКО). Отбраковке подлежат значения C_t ВКО, отличающиеся более чем на 2 от значения $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$. После отбраковки пересчитать $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ для оставшихся значений.

8.2.2. Результат анализа образца считается отрицательным, если для этого образца значение C_t по каналам «HEX» и «ROX» больше 40 или не определяется (кроме ГРС-4). В ГРС-4 для этого образца значение C_t по каналу «HEX» больше 32 или не определяется и по каналу «ROX» больше 35 или не определяется.

Если для такого образца значение C_t ВКО отличается от значения $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ более чем на 2, то результат по данному образцу не подлежит анализу и учету как отрицательный. Необходимо провести повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения ДНК.

8.2.3. Анализируемый образец считается положительным, т.е. содержащим ДНК соответствующего возбудителя инфекции, если для этого образца в соответствующей ГРС (см. таблицу) значение C_t по каналу «HEX» или «ROX» меньше или равно 40 (кроме ГРС-4). В ГРС-4 для этого образца значение C_t по каналу «HEX» меньше или равно 32, по каналу «ROX» меньше или равно 35.

8.2.4. В случае контаминации все положительные результаты по данной индивидуальной постановке ПЦР считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки,

для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

9.5. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест ПЦР-12 ИППП», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Начальник отделения
производства ПЦР-наборов
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор

Т.И. Пospelова

м.п.



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 13 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО ИГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.
"20" 21 2021 г.

