

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Общества с ограниченной
ответственностью «НекстБио»



О. О. Лавинюков
« 26 » августа 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения ДНК
Ureaplasma parvum, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma*
hominis методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для
диагностики in vitro

«АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы»

АмплиПрайм®



ООО «НекстБио»,
Российская Федерация, 111394,
город Москва, улица Полимерная, дом 8, стр. 2

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	4
ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	6
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	10
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ...	12
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК	12
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	12
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	13
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	13
ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-100)	14
СОСТАВ	14
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	14
А. Подготовка пробирок для амплификации	14
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	15
В. Анализ и интерпретация результатов	16
ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 2 («ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN)	21
СОСТАВ	21
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	21
А. Подготовка пробирок для амплификации	21
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	22
В. Анализ и интерпретация результатов	24
ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 3 («ПЦР-комплект» вариант FRT-L)	28
СОСТАВ	28
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	28
А. Подготовка пробирок для амплификации	28
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	29
В. Анализ и интерпретация результатов	30
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	35
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	35
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	37

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО-FL	- экзогенный внутренний контрольный образец
ВКО Glob	- эндогенный внутренний контрольный образец (участок β -глобинового гена человека)
ГЭ	- геномные эквиваленты
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
дНТФ	- дезоксирибонуклеотидтрифосфат
K1, K2	- ДНК-калибраторы
K-	- отрицательный контроль ПЦР
НК	- нуклеиновые кислоты
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РУ	- регистрационное удостоверение
УДГ	- урацил-ДНК-гликозилаза
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» предназначен для количественного определения ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в биологическом материале (отделяемое слизистой оболочки влагалища) методом мультиплексной ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на наличие инфекций урогенитального тракта.

Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала с помощью комплектов реагентов, рекомендованных Производителем.

ВНИМАНИЕ! 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.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала и одновременной амплификации участков ДНК выявляемых микроорганизмов и ДНК β -глобинового гена человека с гибридационно-флуоресцентной детекцией. ДНК β -глобинового гена используется в качестве эндогенного внутреннего контроля (ВКО Glob) и позволяет не только контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца, но и оценивать адекватность взятия биологического материала и его хранения.

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 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».

Количественное определение ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* методом ПЦР в режиме «реального времени» основывается на существовании линейной зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговый цикл, Cycle threshold, C_t). Для проведения количественного теста амплификацию ДНК из исследуемых образцов проводят совместно с ДНК-калибраторами – образцами с известной концентрацией ДНК-мишени. По результатам амплификации ДНК-калибраторов строится калибровочная линия, по которой происходит определение концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах.

Концентрацию ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* возможно определить в двух вариантах. В **первом варианте** определяются абсолютные значения концентраций ДНК микроорганизмов, отражающие количество геномных эквивалентов клеток микроорганизмов в 1 мл биологического образца (ГЭ/мл). Во **втором варианте** рассчитываются нормированные значения концентрации ДНК микроорганизмов, отражающие количество клеток микроорганизмов относительно клеток слизистой оболочки человека.

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и трифосфата дезоксиуридина. Фермент УДГ распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих

дезоксиуридин, но не ДНК, содержащей дезокситимидин. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда присутствует в ампликонах, поскольку трифосфат дезоксиуридина входит в состав смеси дНТФ в реагентах для амплификации. Дезоксиуридин делает контаминирующие ампликоны восприимчивыми к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

Фермент УДГ термолабилен и инактивируется при нагревании выше 50 °С и поэтому не разрушает ампликоны мишени, нарабатываемые в процессе ПЦР.

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке проводится 4 реакции – амплификация участков ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis*, а также амплификация фрагмента ДНК человека (ВКО Glob). Результаты амплификации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M.hominis*, а также ДНК ВКО Glob регистрируются по 4 различным каналам флуоресцентной детекции:

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
ДНК-мишень	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК человека (ВКО Glob)
Область амплификации	urease complex component gene	urease complex component gene	16S rRNA	β-globin gene

ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в 3 формах комплектации:

Форма 1 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100.

Форма 2 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN.

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-L.

Все формы комплектации предназначены для проведения амплификации ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и позволяют выявлять ДНК в количественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные Производителем.

Форма комплектации 2 может быть использована совместно с автоматическими станциями приготовления реакционных смесей.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Линейный диапазон измерения и аналитическая чувствительность

Таблица 2

Вид исследуемого материала	Транспортная среда	Комплект для экстракции ДНК	Комплект для амплификации	Микро-организм	Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл ¹	Линейный диапазон измерения, ГЭ/мл
Отделяемое слизистой оболочки влагалища	«АмплиПрайм ТС» или «АмплиПрайм ТСМ» или «Транспортная среда ТС-ЭДЭМ» ²	«АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ»	«ПЦР-комплект» вариант FRT-100, FRT-100 FN, FRT-L	<i>U. parvum</i>	1x10 ³	1x10 ⁴ – 1x10 ⁸
				<i>U. urealyticum</i>		
				<i>M. hominis</i>		

Данные значения характеристик достигаются при соблюдении правил, указанных в разделах «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала» и «Подготовка исследуемого материала к экстракции ДНК».

Аналитическая чувствительность в отношении каждого из микроорганизмов сохраняется и в присутствии высоких концентраций ДНК двух других анализируемых микроорганизмов – до 10⁹ ГЭ/мл.

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает фрагменты ДНК заявленных микроорганизмов. Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК следующих микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Neisseria flava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, HSV 1 и 2 типа, CMV, HPV.

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов неспецифических реакций выявлено не было.

¹ Количество геномных эквивалентов микроорганизма (ГЭ) в биологическом материале (отделяемое слизистой оболочки влагалища), помещенном в указанную транспортную среду, в пересчете на 1 мл.

² Форма комплектации 3 или 4 комплекта реагентов «АмплиПрайм ЭДЭМ».

Воспроизводимость, повторяемость и правильность

Воспроизводимость и повторяемость были определены путем тестирования модельного образца биоматериала. Модельный образец биоматериала был приготовлен разведением стандартного образца предприятия, содержащего ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M.hominis* в трех диапазонах концентраций (от 3х10⁴ до 9х10⁴, от 1х10⁵ до 5х10⁵, от 1х10⁶ до 5х10⁶ ГЭ/мл) в биологическом материале, не содержащем ДНК каких-либо других возбудителей ИППП.

Правильность была определена путем тестирования стандартных образцов предприятия в концентрации 1х10⁵ ГЭ/мл.

Таблица 3

Воспроизводимость

Микроорга- низм	Исходное значение концентрации, ГЭ/мл	Количество повторов	Среднее значение концентрации, lg	Стандартное отклонение (SD)	Кoeffициент вариации (CV), %
<i>U. parvum</i>	3х10 ⁴ – 9х10 ⁴	80	4,84	0,07	1,53
<i>U. urealyticum</i>		80	4,68	0,10	2,17
<i>M. hominis</i>		80	4,89	0,08	1,57
<i>U. parvum</i>	1х10 ⁵ – 5х10 ⁵	80	5,20	0,10	1,98
<i>U. urealyticum</i>		80	5,15	0,07	1,42
<i>M. hominis</i>		80	5,69	0,04	0,77
<i>U. parvum</i>	1х10 ⁶ – 5х10 ⁶	80	6,42	0,06	0,99
<i>U. urealyticum</i>		80	6,31	0,06	0,94
<i>M. hominis</i>		80	6,46	0,03	0,40

Таблица 4

Повторяемость

Микроорганизм	Исходное значение концентрации, ГЭ/мл	Количество повторов	Среднее значение концентрации, ГЭ/мл	Стандартное отклонение (SD)	Кoeffициент вариации (CV), %
<i>U. parvum</i>	3х10 ⁴ – 9х10 ⁴	40	4,80	0,05	1,11
<i>U. urealyticum</i>		40	4,66	0,09	1,90
<i>M. hominis</i>		40	4,92	0,04	0,84
<i>U. parvum</i>	1х10 ⁵ – 5х10 ⁵	40	5,17	0,09	1,81
<i>U. urealyticum</i>		40	5,21	0,03	0,49
<i>M. hominis</i>		40	5,69	0,04	0,70
<i>U. parvum</i>	1х10 ⁶ – 5х10 ⁶	40	6,39	0,06	0,86
<i>U. urealyticum</i>		40	6,33	0,04	0,67
<i>M. hominis</i>		40	6,48	0,02	0,25

Таблица 5

Правильность

Микроорганизм	Количество повторов	Среднее значение измерения, lg	Установленное значение	Систематическая погрешность (В)	
				lg	%
<i>U. parvum</i>	100	4,94	4,71	0,23	4,88
<i>U. urealyticum</i>	100	4,72	4,47	0,25	5,59
<i>M. hominis</i>	100	5,30	5,19	0,11	2,12

Результаты тестирования набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» в сравнении с референтным методом

Тип образцов	Результаты применения набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы»		Результаты применения референтного метода ³					
			<i>U. parvum</i>		<i>U. urealyticum</i>		<i>M. hominis</i>	
			положительных	отрицательных	положительных	отрицательных	положительных	отрицательных
Отделяемое слизистой оболочки влагалища	Всего исследовано 481 образец	положительных	145	0	137	0	150	0
		отрицательных	0	336	0	344	0	331

Были использованы 481 образец отделяемого слизистой оболочки влагалища, полученных от пациенток с симптомами урогенитальной инфекции.

Диагностические характеристики набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы»

Тип образцов	Диагностическая чувствительность ⁴ , (с доверительной вероятностью 95 %), не менее %			Диагностическая специфичность ⁵ , (с доверительной вероятностью 95 %), не менее %		
	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>
Отделяемое слизистой оболочки влагалища	98,0	97,8	98,0	99,1	99,1	99,1

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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:

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать

³ В качестве референтного метода использовался набор реагентов «АмплиСенс® ФлороЦеноз / Микоплазмы-FL» (ПУ № ФСР 2012/13535).

⁴ Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

⁵ Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

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 или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп 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, упаковку, 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 фильтром⁶. 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.
- К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической

⁶ Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

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 контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности реагентов (SDS – Safety data sheet) доступны 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 безопасен.

Специфические воздействия набора реагентов на организм человека :

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

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Транспортная среда – «Транспортная среда с муколитиком «АмплиПрайм ТСМ» (РУ № ФСР 2012/14205), «Транспортная среда для мазков «АмплиПрайм ТС» (РУ № ФСР 2012/14203), «Транспортная среда ТС-ЭДЭМ» (форма комплектации 3 или 4 комплекта реагентов «АмплиПрайм ЭДЭМ») (РУ № ФСР 2012/14018) или другие рекомендованные Производителем.
2. Зонд гинекологический универсальный (например, ЗГУ «ЦМ», ООО «ЦЕНТРИМЕД», Россия или аналогичный).
3. Зонд-тампон для отбора, транспортировки и хранения биологических проб (например, DELTALAB S.L.U. («ДЕЛЬТАЛАБ С.Л.У.»), Испания или аналогичный).

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

4. Комплект реагентов для экстракции ДНК – «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ» вариант 100С (РУ № ФСР 2012/14204), «АмплиПрайм ЭДЭМ» (форма комплектации 1 или 2) (РУ № ФСР 2012/14018) или другие рекомендованные Производителем.
5. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.

Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

6. Одноразовые полипропиленовые пробирки при работе с «ПЦР-комплексом» FRT-100 FN:
 - а) завинчивающиеся 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 выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) – при использовании прибора планшетного типа;
 - в) 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) – при использовании прибора роторного типа.
7. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
8. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов) (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
9. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С.», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
10. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
11. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
12. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий 4 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз,

Инк.»), США) и другие рекомендованные Производителем).

13. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
14. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
15. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служит отделяемое слизистой оболочки влагалища (мазки).

Мазки со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести с помощью зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой из заднебокового свода влагалища. Рабочей частью зонда вращательным движением провести по поверхности боковых стенок влагалища, максимально полно собирая отделяемое. Материал из влагалища взять в достаточном количестве. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови. Зонд перенести в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда, содержащую исследуемый материал, обломить и оставить в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда, следует максимально полно смыть биоматериал с рабочей части в пробирку с транспортной средой, прижав ее к внутренней стороне пробирки и вращая по 5–10 раз по часовой и против часовой стрелки. Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!

Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и промаркировать. В случае использования транспортной среды с муколитиком ее цвет может измениться за счет изменения pH (при кислом pH отделяемого).

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Образцы отделяемого слизистой оболочки влагалища не требуют предварительной подготовки.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Использование для проведения ПЦР-исследования биологического материала, содержащего избыточное количество примесей в виде слизи, крови, гноя и др. может

приводить к ингибированию реакции амплификации.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых образцов,
- амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используется комплект реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ» и другие рекомендованные Производителем. Порядок работы с комплектом реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ» смотрите в инструкции к используемому комплекту для экстракции.

ВНИМАНИЕ! При проведении количественного ПЦР-исследования недопустимо использование комплекта реагентов «АмплиПрайм ЭДЭМ» и других экспресс-методов экстракции ДНК.

Объемы реагентов и образцов при экстракции с помощью комплекта реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ»:

ВНИМАНИЕ! Добавление внутреннего контрольного образца не требуется.

Объем исследуемого образца – **100 мкл**.

В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл ОКО**.

Объем элюции – **100 мкл**.

ВНИМАНИЕ! В случае проведения амплификации с использованием «ПЦР-комплекта» вариант FRT-L необходимо проводить элюцию ДНК в **250 мкл буфера для элюции В**.

ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-100)

СОСТАВ

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 для амплификации фрагментов ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и ДНК человека с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» позволяет проводить ПЦР-исследование в количественном формате. Комплект реагентов включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы раскапана под воск	Прозрачная бесцветная жидкость	0,01	110 пробирок объемом 0,2 мл
ПЦР-буфер-К	Прозрачная жидкость красного цвета	1,1	1 пробирка
K1 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
K2 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка

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

К набору реагентов прилагается диск, содержащий руководство оператора и программное обеспечение версии 1.0 в формате Microsoft Excel для автоматической обработки исходных данных и получения результатов.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

А. Подготовка пробирок для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 30 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью Флороскрин-Микоплазмы для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п. 4). Убедиться, что воск полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.
2. На поверхность воска внести по 10 мкл ПЦР-буфера-К, при этом он не должен проваливаться под воск и смешиваться с ПЦР-смесью Флороскрин-Микоплазмы.
3. В подготовленные пробирки внести по 10 мкл проб ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

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.

4. Поставить контрольные реакции:

- а) **ДНК-калибратор K1** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K1 complex**.
- б) **ДНК-калибратор K2** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K2 complex**.
- в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из ОКО.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию также необходима постановка отрицательного контроля ПЦР (K–). Для этого 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. 8, 9)⁷.

Таблица 8

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов роторного⁸ и планшетного⁹ типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала, помимо указанных в таблице, назначается и по другим используемым каналам. В случае, если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно

⁷ Программы амплификации (табл. 8, 9) равнозначны в использовании для данного набора реагентов.

⁸ Например, Rotor-Gene Q (QIAGEN) и другие рекомендованные Производителем.

⁹ Например, CFX 96 (Bio-Rad) и другие рекомендованные Производителем.

удалить из данной программы первый шаг обратной транскрипции (50 °C – 15 минут) для экономии времени.

Таблица 9

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Приборы роторного типа ⁸			Приборы планшетного типа ⁹		
	Температура, °C	Время	Количество циклов	Температура, °C	Время	Количество циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	5 с	5	95	5 с	5
	60	20 с		60	20 с	
	72	15 с		72	15 с	
3	95	5 с	40	95	5 с	40
	60	20 с детекция флуоресц. сигнала		60	30 с детекция флуоресц. сигнала	
	72	15 с		72	15 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров **FAM, JOE, ROX** и **Sy5**. При одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам.

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
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 и интерпретацию результатов можно проводить в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения к набору реагентов, согласно руководству оператора по применению программного обеспечения.

Анализ полученных результатов проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 4 каналам:

Таблица 10

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК ВКО Glob

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (*Ct*) в соответствующей графе таблицы результатов.

На основании полученных значений порогового цикла (*Ct*) и исходя из заданных значений концентраций для ДНК-калибраторов K1 и K2 происходит автоматическое построение калибровочной прямой и расчет значений геномных эквивалентов (ГЭ) ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* и ДНК человека в 1 мл исследуемых и контрольных образцов.

ВНИМАНИЕ! Значения концентраций ДНК-калибраторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

ВНИМАНИЕ! Допускается использование результатов, полученных для ДНК-калибраторов в предыдущей постановке, выполненной на данном приборе, для проведения последующих постановок с использованием данной серии набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» путем экспорта полученных для ДНК-калибраторов результатов с помощью программного обеспечения прибора.

Таблица 11

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Заключение	Расшифровка
Невалидный	Концентрация ДНК ВКО Glob при исследовании образцов отделяемого слизистой оболочки влагалища менее 1х10 ⁵ ГЭ/мл. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата необходимо повторно провести взятие биологического материала и ПЦР-исследование.
ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена	Значение <i>Ct</i> для ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> отсутствует, при этом концентрация ДНК ВКО Glob более 1х10 ⁵ ГЭ/мл. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена.
менее 1х10 ³ ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации меньше нижнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат менее 1х10³ ГЭ/мл.

X x 10 ⁹ ГЭ/мл	Рассчитанное значение концентрации (ГЭ/мл) находится в пределах линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации X x 10⁹ ГЭ/мл.
более 1x10 ⁷ ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации выше верхнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат более 1x10⁷ ГЭ/мл.

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

Относительные (нормированные) значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis*

Полученные значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* могут быть нормированы на стандартное количество клеток человека (число ГЭ *U.p.* (*U.u.*, *M.h.*) на 10⁵ клеток человека). Нормированные значения концентраций отражают количество клеток возбудителя относительно клеток человека. Кроме того, значение концентрации ДНК человека позволяет оценить качество взятия биологического материала.

Расчет нормированных значений концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* производят согласно формуле:

$\frac{\text{число ГЭ ДНК } U.p. (U.u., M.h.) \text{ в 1 мл}}{\text{число ГЭ ДНК человека в 1 мл}} \times 10^5 =$	$\text{число ГЭ } U.p. (U.u., M.h.) \text{ на } 10^5 \text{ клеток человека}$
---	---

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации ДНК в соответствии с табл. 12 и вкладышем, прилагаемом к набору реагентов.

Таблица 12

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Конт-роль	Контролиру-емый этап ПЦР-исследования	Результаты амплификации по каналу для флуорофора			
		FAM	JOE	ROX	Sy5
ОК	экстракция ДНК	значение Ct отсутствует	значение Ct отсутствует	значение Ct отсутствует	определена концентрация меньше граничного
К–	ПЦР	значение Ct отсутствует	значение Ct отсутствует	значение Ct отсутствует	определена концентрация меньше граничного
К1	ПЦР	определено значение Ct	определено значение Ct	определено значение Ct	определено значение Ct
К2	ПЦР	значение Ct определено меньше граничного	значение Ct определено меньше граничного	значение Ct определено меньше граничного	значение Ct определено меньше граничного

Возможные ошибки

1. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (C_t) и/или по каналу для флуорофора Cy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемых микроорганизмов, начиная с этапа экстракции ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К-) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (C_t) и/или по каналу для флуорофора Cy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека 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 ДНК анализируемых микроорганизмов.
3. Для ДНК-калибратора K1 отсутствует значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 12). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
4. Для ДНК-калибратора K2 значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 12) отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
5. Показатель эффективности E при построении калибровочной прямой менее 80 % 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 калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
6. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо

проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 2 («ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN)

СОСТАВ

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN для амплификации фрагментов ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и ДНК человека с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» позволяет проводить ПЦР-исследование в количественном формате. Комплект реагентов включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
K1 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
K2 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
K–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка

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

К набору реагентов прилагается диск, содержащий руководство оператора и программное обеспечение версии 1.0 в формате Microsoft Excel для автоматической обработки исходных данных и получения результатов.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

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

А. Подготовка пробирок для амплификации

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси Флороскрин-Микоплазмы** и **5 мкл ПЦР-буфера-Н**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (см. контрольные реакции в п. 7) плюс запас на несколько реакций.

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

2. Перемешать содержимое пробирок с **ПЦР-смесью Флороскрин-Микоплазмы, ПЦР-буфером-Н**, осадить капли на вортексе.
3. В отдельной пробирке подготовить реакционную смесь. Смешать необходимое количество **ПЦР-смеси Флороскрин-Микоплазмы** и **ПЦР-буфера-Н**, осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
5. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

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:

- а) **ДНК-калибратор К1** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К1 complex**.
- б) **ДНК-калибратор К2** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К2 complex**.
- в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из ОКО.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию также необходима постановка отрицательного контроля ПЦР (К–). Для этого в пробирку с готовой реакционной смесью внести **10 мкл К–**.

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. 13, 14)¹⁰.

¹⁰ Программы амплификации (табл. 13, 14) равнозначны в использовании для данного набора реагентов.

Таблица 13

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов роторного¹¹ и планшетного¹² типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	45
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала, помимо указанных в таблице, назначается и по другим используемым каналам. В случае, если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно удалить из данной программы первый шаг обратной транскрипции (50 °C – 15 минут) для экономии времени.

Таблица 14

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Приборы роторного типа ¹¹				Приборы планшетного типа ¹²		
Цикл	Температура, °C	Время	Количество циклов	Температура, °C	Время	Количество циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	5 с	5	95	5 с	5
	60	20 с		60	20 с	
	72	15 с		72	15 с	
3	95	5 с	40	95	5 с	40
	60	20 с детекция флуоресц. сигнала		60	30 с детекция флуоресц. сигнала	
	72	15 с		72	15 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров **FAM, JOE, ROX** и **Cy5**. При одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам.

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется

¹¹ Например, Rotor-Gene Q (QIAGEN) и другие рекомендованные Производителем.

¹² Например, CFX 96 (Bio-Rad) и другие рекомендованные Производителем.

перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

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 и интерпретацию результатов можно проводить в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения к набору реагентов, согласно руководству оператора по применению программного обеспечения.

Анализ полученных результатов проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 4 каналам:

Таблица 15

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК ВКО Glob

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (C_t) в соответствующей графе таблицы результатов.

На основании полученных значений порогового цикла (C_t) и исходя из заданных значений концентраций для ДНК-калибраторов K1 и K2 происходит автоматическое построение калибровочной прямой и расчет значений геномных эквивалентов (ГЭ) ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* и ДНК человека в 1 мл исследуемых и контрольных образцов.

ВНИМАНИЕ! Значения концентраций ДНК-калибраторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

ВНИМАНИЕ! Допускается использование результатов, полученных для ДНК-калибраторов в предыдущей постановке, выполненной на данном приборе, для проведения последующих постановок с использованием данной серии набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» путем экспорта полученных для ДНК-калибраторов результатов с помощью программного обеспечения прибора.

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Заключение	Расшифровка
Невалидный	Концентрация ДНК ВКО Glob при исследовании образцов отделяемого слизистой оболочки влагалища менее 1х10 ⁵ ГЭ/мл. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата необходимо повторно провести взятие биологического материала и ПЦР-исследование.
ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена	Значение <i>Ct</i> для ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> отсутствует, при этом концентрация ДНК ВКО Glob более 1х10 ⁵ ГЭ/мл. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена.
менее 1х10 ³ ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации меньше нижнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат менее 1х10³ ГЭ/мл.
X х 10 ^Y ГЭ/мл	Рассчитанное значение концентрации (ГЭ/мл) находится в пределах линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации X х 10^Y ГЭ/мл.
более 1х10 ⁷ ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации выше верхнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат более 1х10⁷ ГЭ/мл.

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

Относительные (нормированные) значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis*

Полученные значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* могут быть нормированы на стандартное количество клеток человека (число ГЭ *U.p.* (*U.u.*, *M.h.*) на 10⁵ клеток человека). Нормированные значения концентраций отражают количество клеток возбудителя относительно клеток человека. Кроме того, значения концентраций ДНК человека позволяют оценить качество взятия биологического материала.

Расчет нормированных значений концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* производят согласно формуле:

число ГЭ ДНК *U.p.* (*U.u.*, *M.h.*) в 1 мл

число ГЭ ДНК человека в 1 мл

x 10⁵ =

число ГЭ *U.p.* (*U.u.*, *M.h.*)

на 10⁵ клеток человека

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации ДНК в соответствии с табл. 17 и вкладышем, прилагаемом к набору реагентов.

Таблица 17

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Конт- роль	Контролиру- емый этап ПЦР- исследования	Результаты амплификации по каналу для флуорофора			
		FAM	JOE	ROX	Sy5
OK	экстракция ДНК	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	определена концентрация меньше граничного
K–	ПЦР	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	определена концентрация меньше граничного
K1	ПЦР	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>
K2	ПЦР	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного

Возможные ошибки

1. Для отрицательного контроля экстракции (OK) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (*Ct*) и/или по каналу для флуорофора Sy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемых микроорганизмов, начиная с этапа экстракции ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (K–) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (*Ct*) и/или по каналу для флуорофора Sy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека 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 ДНК анализируемых микроорганизмов.

3. Для ДНК-калибратора K1 отсутствует значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 17). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
4. Для ДНК-калибратора K2 значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 17) отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
5. Показатель эффективности E при построении калибровочной прямой менее 80 % 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 калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
6. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 3 («ПЦР-комплект» вариант FRT-L)

СОСТАВ

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-L для амплификации фрагментов ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и ДНК человека с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» позволяет проводить ПЦР-исследование в количественном формате. Комплект реагентов включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы-Lyo	Порошок белого цвета	–	96 пробирок объемом 0,2 мл или 96-луночный планшет для ПЦР
K1 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
K2 complex	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
K–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
Буфер для элюции В	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	8 пробирок

Комплект реагентов рассчитан на проведение 96 реакций амплификации, включая контроли.

К набору реагентов прилагается диск, содержащий руководство оператора и программное обеспечение версии 1.0 в формате Microsoft Excel для автоматической обработки исходных данных и получения результатов.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

А. Подготовка пробирок для амплификации

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

1. Отобрать необходимое количество пробирок или достать 96-луночный планшет для амплификации с готовой лиофилизированной реакционной ПЦР-смесью Флороскрин-Микоплазмы-Lyo для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п. 3).
2. В подготовленные пробирки или лунки планшета внести по **25 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

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.

ВНИМАНИЕ! При работе с планшетом, пробы ДНК и контрольные образцы добавлять аккуратно на дно лунки, не допуская образования капель на стенке.

3. Поставить контрольные реакции:

- а) **ДНК-калибратор K1** – в пробирку или лунку планшета с реакционной смесью внести **25 мкл K1 complex**.
- б) **ДНК-калибратор K2** – в пробирку или лунку планшета с реакционной смесью внести **25 мкл K2 complex**.
- в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку или лунку планшета с реакционной смесью внести **25 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию также необходима постановка отрицательного контроля ПЦР (К–). Для этого в пробирку с готовой реакционной смесью внести **25 мкл К–**.

ВНИМАНИЕ! Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

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. 18, 19)¹³.

Таблица 18

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов роторного¹⁴ и планшетного¹⁵ типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и

¹³ Программы амплификации (табл. 18, 19) равнозначны в использовании для данного набора реагентов.

¹⁴ Например, Rotor-Gene Q (QIAGEN) и другие рекомендованные Производителем.

¹⁵ Например, CFX 96 (Bio-Rad) и другие рекомендованные Производителем.

амплификацией. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала, помимо указанных в таблице, назначается и по другим используемым каналам. В случае, если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно удалить из данной программы первый шаг обратной транскрипции (50 °C – 15 минут) для экономии времени.

Таблица 19

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Приборы роторного типа ¹⁴				Приборы планшетного типа ¹⁵		
Цикл	Температура, °C	Время	Количество циклов	Температура, °C	Время	Количество циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	5 с	5	95	5 с	5
	60	20 с		60	20 с	
	72	15 с		72	15 с	
3	95	5 с	40	95	5 с	40
	60	20 с детекция флуоресц. сигнала		60	30 с детекция флуоресц. сигнала	
	72	15 с		72	15 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров **FAM, JOE, ROX** и **Sy5**. При одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам.

- 2. Установить пробирки или планшет в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
- 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 и интерпретацию результатов можно проводить в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения к набору реагентов, согласно руководству оператора по применению программного обеспечения.

Анализ полученных результатов проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 4 каналам:

Таблица 20

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК ВКО Glob

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (*Ct*) в соответствующей графе таблицы результатов.

На основании полученных значений порогового цикла (*Ct*) и исходя из заданных значений концентраций для ДНК-калибраторов K1 и K2 происходит автоматическое построение калибровочной прямой и расчет значений геномных эквивалентов (ГЭ) ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* и ДНК человека в 1 мл исследуемых и контрольных образцов.

ВНИМАНИЕ! Значения концентраций ДНК-калибраторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

ВНИМАНИЕ! Допускается использование результатов, полученных для ДНК-калибраторов в предыдущей постановке, выполненной на данном приборе, для проведения последующих постановок с использованием данной серии набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» путем экспорта полученных для ДНК-калибраторов результатов с помощью программного обеспечения прибора.

Таблица 21

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Заключение	Расшифровка
Невалидный	Концентрация ДНК ВКО Glob при исследовании образцов отделяемого слизистой оболочки влагалища менее 1×10^5 ГЭ/мл. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата необходимо повторно провести взятие биологического материала и ПЦР-исследование.
ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена	Значение <i>Ct</i> для ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> отсутствует, при этом концентрация ДНК ВКО Glob более 1×10^5 ГЭ/мл. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> не выявлена.
менее 1×10^3 ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации меньше нижнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат менее 1×10^3 ГЭ/мл.

$X \times 10^9$ ГЭ/мл	Рассчитанное значение концентрации (ГЭ/мл) находится в пределах линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как ДНК <i>U. parvum</i>, <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации $X \times 10^9$ ГЭ/мл.
более 1×10^7 ГЭ/мл	ДНК <i>U. parvum</i> , <i>U. urealyticum</i> и <i>M. hominis</i> выявлена в концентрации выше верхнего предела линейного диапазона измерения набора реагентов. Результат выдается как результат более 1×10^7 ГЭ/мл.

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

Относительные (нормированные) значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis*

Полученные значения концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* могут быть нормированы на стандартное количество клеток человека (число ГЭ *U.p.* (*U.u.*, *M.h.*) на 10^5 клеток человека). Нормированные значения концентраций отражают количество клеток возбудителя относительно клеток человека. Кроме того, значения концентраций ДНК человека позволяют оценить качество взятия биологического материала.

Расчет нормированных значений концентрации ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum* и *M. hominis* производят согласно формуле:

$\frac{\text{число ГЭ ДНК } U.p. (U.u., M.h.) \text{ в } 1 \text{ мл}}{\text{число ГЭ ДНК человека в } 1 \text{ мл}} \times 10^5 =$	$\text{число ГЭ } U.p. (U.u., M.h.) \text{ на } 10^5 \text{ клеток человека}$
---	---

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации ДНК в соответствии с табл. 22 и вкладышем, прилагаемом к набору реагентов.

Таблица 22

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Конт- роль	Контролиру- емый этап ПЦР- исследования	Результаты амплификации по каналу для флуорофора			
		FAM	JOE	ROX	Cy5
OK	экстракция ДНК	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	определена концентрация меньше граничного
K-	ПЦР	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	значение <i>Ct</i> отсутствует	определена концентрация меньше граничного
K1	ПЦР	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>	определено значение <i>Ct</i>
K2	ПЦР	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного	значение <i>Ct</i> определено меньше граничного

Возможные ошибки

1. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (C_t) и/или по каналу для флуорофора Cy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемых микроорганизмов, начиная с этапа экстракции ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К-) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX определено значение порогового цикла (C_t) и/или по каналу для флуорофора Cy5 определено значение концентрации больше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации и ДНК человека 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 ДНК анализируемых микроорганизмов.
3. Для ДНК-калибратора K1 отсутствует значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 22). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
4. Для ДНК-калибратора K2 значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 22) отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
5. Показатель эффективности E при построении калибровочной прямой менее 80 % 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 калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
6. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо

проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

•

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут. Комплект реагентов и «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 и вариант FRT-100 FN при получении разуккомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Форма комплектации 1. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 хранить при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-буфера-К. ПЦР-буфер-К хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы хранить в защищенном от света месте.

Форма комплектации 2. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN хранить при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-буфера-Н. ПЦР-буфера-Н хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы хранить в защищенном от света месте.

Форма комплектации 3. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-L хранить при температуре от 2 до 8 °С. ПЦР-смесь Флороскрин-Микоплазмы-Луо хранить в пакетах с влагопоглотителем в защищенном от света месте.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель 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.

Рекламации на качество набора реагентов «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио» (111394 г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2) в отдел по работе с рекламациями (тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru).

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 и эксплуатации набора реагентов, рекомендуется направить сообщение в отдел по работе с рекламациями по адресу, указанному

выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер в каталоге



Максимальное
число тестов



Код партии



Использовать до



Изделие для in vitro
диагностики



Обратитесь к
руководству по
эксплуатации



Дата изменения



Не допускать
попадания
солнечного света



Ограничение
температуры



Дата изготовления



Производитель



Беречь от влаги



Хрупкое. Осторожно



Верх

Лист регистрации изменений

Редакция	Место внесения изменений	Суть вносимых изменений
24.07.2015	По тексту	Исправлены опечатки
	Дополнительные материалы и оборудование	Уточнено, что комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК должен соответствовать инструкции Производителя
	Меры предосторожности	Дополнены сведения об описании утилизации или уничтожения упаковки, биологического материала, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом с отдельным описанием правил
	Диагностические характеристики	Изменены значения диагностических характеристик (специфичности и чувствительности) на значения, полученные в результате клинико-лабораторных испытаний, с доверительной вероятности 95%

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

38 лист (а/ов)



Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»

О.О. Лавинюков