

«УТВЕРЖДАЮ»

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

В.Г. Акимкин

« 30 » июля 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для определения ДНК *N. gonorrhoeae*,
C. trachomatis, *M. genitalium* и *T. vaginalis* методом ПЦР

AmpliSens® NG/CT/MG/TV

AmpliSens®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	9
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	15
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	17
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	17
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	20
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....	24
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	25
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	27
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	27
ФОРМА FRT-96.....	28
СОСТАВ	28
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	28
А. Подготовка проб для амплификации	28
Б. Запуск амплификации	29
В. Анализ и интерпретация результатов	30
ФОРМА FRT-96F и FRT-288F	32
СОСТАВ	32
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	32
А. Подготовка проб для амплификации	32
Б. Запуск амплификации	33
В. Анализ и интерпретация результатов	34
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	36
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	37
БИБЛИОГРАФИЯ	38
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	39

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	- экзогенный внутренний контрольный образец
ГЭ	- геномные эквиваленты
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ОК	- отрицательный контроль
ПК	- положительный контроль
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РУ	- регистрационное удостоверение
УДГ	- урацил-ДНК-гликозилаза
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»
NG/CT/MG/TV	- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV предназначен для качественного и количественного определения ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* и *Trichomonas vaginalis* в биологическом материале (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы; моча (первая порция); секрет предстательной железы) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

Показания и противопоказания к применению набора реагентов

ВНИМАНИЕ! Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на наличие инфекций,

передаваемых половым путем, вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда взятие материала не может быть осуществлено по медицинским показаниям.

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала совместно с экзогенным внутренним контрольным образцом (ВКО) и одновременной амплификации участков ДНК выявляемых микроорганизмов и ДНК ВКО с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

Амплификация участка ДНК проводится при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, комплементарные участкам амплифицируемых ДНК-мишеней, что позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Количественное определение ДНК выявляемых микроорганизмов основывается на существовании линейной зависимости между логарифмом исходной концентрации ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала [1]. Для проведения количественного теста ПЦР-исследование анализируемых образцов проводят одновременно с образцом с известной концентрацией ДНК-мишени – положительным

контролем, который аттестован по методике Изготовителя. По результатам амплификации положительного контроля проводится расчет концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах в виде количества геномных эквивалентов микроорганизмов в 1 мл биологического образца (ГЭ/мл). Один геномный эквивалент (геном) соответствует одному микроорганизму.

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и дезоксиуридинтрифосфата.

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке проводится амплификация пяти ДНК-мишеней. Результаты амплификации регистрируются по каналам флуоресцентной детекции, указанным в табл. 1:

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
ДНК-мишень	ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	ДНК <i>C. trachomatis</i>	ДНК <i>M. genitalium</i>	ДНК ВКО	ДНК <i>T. vaginalis</i>
Область амплификации	ген 16S rRNA	криптическая плазида	ген <i>pdhD</i>	искусственная нуклеотидная последовательность	ДНК-повторы для ПЦР-идентификации

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Таблица 2

Характеристика	Форма FRT-96	Форма FRT-96F	Форма FRT-288F
Число реакций амплификации, включая контроли	96	96	288
Реагент Mix-NG/CT/MG/TV в стрипованных пробирках на одну реакцию под прослойкой воска	да	нет	нет
Тип амплификатора	планшетный	ротаторный и планшетный	ротаторный и планшетный
Совместимость с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей	нет	да	да

Формы FRT-96, FRT-96F, FRT-288F предназначены для проведения ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения

полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Характеристики были определены при использовании комплектов для экстракции ДНК «ДНК-сорб-АМ» (РУ № ФСР 2007/00183) и «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» (РУ № РЗН 2016/3920).

Диапазон измерения и предел обнаружения

Таблица 3

Микроорганизм	Предел обнаружения, ГЭ/мл	Диапазон измерения, ГЭ/мл
<i>N. gonorrhoeae</i>	250	$1 \times 10^3 - 2,5 \times 10^7$
<i>C. trachomatis</i>	250	$1 \times 10^3 - 2,5 \times 10^7$
<i>M. genitalium</i>	500	$2 \times 10^3 - 1 \times 10^8$
<i>T. vaginalis</i>	0,75	$3 - 1,5 \times 10^5$

Примечание – Концентрация указана в 1 мл мочи или секрета предстательной железы или в пересчете на 1 мл транспортной среды, содержащей мазок/соскоб. Аналитические характеристики определялись в копиях/мл с последующим пересчетом в ГЭ/мл (геномные эквиваленты в 1 мл). Коэффициент пересчета концентрации из копий/мл в ГЭ/мл для ДНК *N. gonorrhoeae* составляет 4 [2]; ДНК *C. trachomatis* – 4 [3]; ДНК *M. genitalium* – 1; ДНК *T. vaginalis* – 660 [4, 5].

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

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает участки ДНК заявленных микроорганизмов при исследовании штамма *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC® 49926™) из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США) и клинических образцов, содержащих *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* и *Mycoplasma genitalium* (видовая принадлежность возбудителей определена с помощью метода прямого секвенирования).

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК следующих микроорганизмов, а также геномной ДНК человека:

- Штаммы из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США): *Enterococcus faecium* (ATCC® 35667™), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538P™), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC® 27336™), *Gardnerella vaginalis* (ATCC® 14018™), *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), *Candida albicans* (ATCC® 14053™) в концентрации не менее 1×10^6 и не более 1×10^8 ГЭ/мл;
- Клинические образцы (видовая принадлежность возбудителей определена с помощью метода прямого секвенирования): *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, *Herpes simplex virus type 1*, *Herpes simplex virus type 2*, *Neisseria flava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *Human papilloma virus 16*, *Cytomegalovirus*, *Mycoplasma hominis*, *Lactobacillus casei*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* в концентрации не менее 1×10^6 и не более 1×10^8 ГЭ/мл;
- ДНК человека в концентрации 1 мкг/мл.

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

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

Повторяемость, воспроизводимость

Повторяемость и воспроизводимость были определены путем тестирования образцов отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, в которых предварительно не была выявлена ДНК определяемых микроорганизмов, а затем были добавлены стандартные образцы предприятия, содержащие ДНК *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* в конечной концентрации $2,5 \times 10^3$, $2,5 \times 10^4$, $2,5 \times 10^5$ ГЭ/мл, *M. genitalium* в конечной концентрации 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 ГЭ/мл и *T. vaginalis* в конечной концентрации 20, 200, 2×10^3 ГЭ/мл (см. табл. 4, 5).

Условия повторяемости включали в себя тестирование в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Условия воспроизводимости – тестирование в двух независимых лабораториях, разными операторами, в разные дни, на разных приборах, разных серий набора реагентов.

Таблица 4

Повторяемость

Форма комплекта-ции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, ГЭ/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
Форма FRT-96	<i>N. gonorrhoeae</i>	2,5x10 ⁵	10	5,40	0,03	0,51
		2,5x10 ⁴	10	4,33	0,03	0,71
		2,5x10 ³	10	3,41	0,03	0,74
	<i>C. trachomatis</i>	2,5x10 ⁵	10	5,53	0,02	0,30
		2,5x10 ⁴	10	4,50	0,02	0,47
		2,5x10 ³	10	3,53	0,05	1,39
	<i>M. genitalium</i>	1x10 ⁶	10	6,09	0,03	0,50
		1x10 ⁵	10	5,09	0,02	0,47
		1x10 ⁴	10	4,20	0,03	0,81
	<i>T. vaginalis</i>	2x10 ³	10	3,44	0,01	0,35
		200	10	2,39	0,03	1,31
		20	10	1,50	0,04	2,66
Форма FRT-288 F	<i>N. gonorrhoeae</i>	2,5x10 ⁵	10	5,40	0,02	0,35
		2,5x10 ⁴	10	4,33	0,02	0,45
		2,5x10 ³	10	3,43	0,04	1,28
	<i>C. trachomatis</i>	2,5x10 ⁵	10	5,53	0,01	0,21
		2,5x10 ⁴	10	4,49	0,02	0,44
		2,5x10 ³	10	3,55	0,05	1,30
	<i>M. genitalium</i>	1x10 ⁶	10	6,10	0,03	0,43
		1x10 ⁵	10	5,09	0,04	0,72
		1x10 ⁴	10	4,23	0,03	0,81
	<i>T. vaginalis</i>	2x10 ³	10	3,44	0,02	0,45
		200	10	2,39	0,02	0,98
		20	10	1,51	0,04	2,47

Таблица 5

Воспроизводимость

Форма комплекта-ции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, ГЭ/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
Форма FRT-96	<i>N. gonorrhoeae</i>	2,5x10 ⁵	40	5,41	0,03	0,59
		2,5x10 ⁴	40	4,35	0,04	0,85
		2,5x10 ³	40	3,41	0,07	1,99
	<i>C. trachomatis</i>	2,5x10 ⁵	40	5,58	0,05	0,92
		2,5x10 ⁴	40	4,52	0,06	1,23
		2,5x10 ³	40	3,55	0,07	1,84
	<i>M. genitalium</i>	1x10 ⁶	40	6,16	0,06	1,00
		1x10 ⁵	40	5,12	0,05	0,96
		1x10 ⁴	40	4,24	0,07	1,60
	<i>T. vaginalis</i>	2x10 ³	40	3,46	0,04	1,02
		200	40	2,41	0,05	2,23
		20	40	1,55	0,07	4,42

Форма комплекта-ции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, ГЭ/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, lg	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
Форма FRT-288 F	<i>N. gonorrhoeae</i>	2,5x10 ⁵	40	5,41	0,03	0,62
		2,5x10 ⁴	40	4,35	0,04	0,81
		2,5x10 ³	40	3,42	0,06	1,85
	<i>C. trachomatis</i>	2,5x10 ⁵	40	5,57	0,05	0,98
		2,5x10 ⁴	40	4,51	0,06	1,30
		2,5x10 ³	40	3,56	0,06	1,72
	<i>M. genitalium</i>	1x10 ⁶	40	6,16	0,06	0,96
		1x10 ⁵	40	5,12	0,05	1,02
		1x10 ⁴	40	4,25	0,07	1,54
	<i>T. vaginalis</i>	2x10 ³	40	3,46	0,04	1,01
		200	40	2,41	0,05	2,06
		20	40	1,55	0,07	4,45

Правильность

Правильность была определена путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, содержащих ДНК *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* в концентрации 2,5x10⁴ ГЭ/мл, *M. genitalium* в концентрации 1x10⁵ ГЭ/мл и *T. vaginalis* в концентрации 2x10² ГЭ/мл (см. табл. 6).

Таблица 6

Правильность

Форма комплекта-ции	Выявляемый патоген	Количество повторов	Ожидаемое значение концентрации, lg	Среднее значение измерения концентрации, lg	Систематическая погрешность (B), %
Форма FRT-96	<i>N. gonorrhoeae</i>	40	4,40	4,35	-1,14
	<i>C. trachomatis</i>	40	4,40	4,52	2,73
	<i>M. genitalium</i>	40	5,00	5,12	2,40
	<i>T. vaginalis</i>	40	2,30	2,41	4,78
Форма FRT-288 F	<i>N. gonorrhoeae</i>	40	4,40	4,31	-2,05
	<i>C. trachomatis</i>	40	4,40	4,53	2,95
	<i>M. genitalium</i>	40	5,00	5,12	2,40
	<i>T. vaginalis</i>	40	2,30	2,38	3,48

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностические чувствительность и специфичность

Для оценки диагностических чувствительности и специфичности качественного определения набора реагентов были использованы образцы, полученные от пациентов, направленных на обследование с подозрением на гонококковые инфекции, хламидийные инфекции, урогенитальные заболевания, вызванные *M. genitalium*, урогенитальные трихомониазы и проходящих плановое

обследование (см. табл. 7).

Таблица 7

Вид исследуемого материала	Микроорганизм	Количество образцов
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры)	<i>N. gonorrhoeae</i>	500
	<i>C. trachomatis</i>	500
	<i>M. genitalium</i>	500
	<i>T. vaginalis</i>	500
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки	<i>N. gonorrhoeae</i>	60
	<i>C. trachomatis</i>	60
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки	<i>N. gonorrhoeae</i>	120
	<i>C. trachomatis</i>	120
Отделяемое конъюнктивы	<i>N. gonorrhoeae</i>	40
	<i>C. trachomatis</i>	40
Моча (первая порция)	<i>N. gonorrhoeae</i>	500
	<i>C. trachomatis</i>	500
	<i>M. genitalium</i>	500
	<i>T. vaginalis</i>	500
Секрет предстательной железы	<i>N. gonorrhoeae</i>	100
	<i>C. trachomatis</i>	100
	<i>M. genitalium</i>	100
	<i>T. vaginalis</i>	100

В качестве референтного метода использовался набор реагентов для определения ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* и *Trichomonas vaginalis* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики *in vitro* «АмплиПрайм® NCMT» (РУ № РЗН 2015/3168).

Результаты представлены в табл. 8.

Таблица 8

Диагностические характеристики набора реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV

Вид исследуемого материала	Микроорганизм	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта	<i>N. gonorrhoeae</i>	100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки		100 (83,2 – 100) %	100 (91,2 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки		100 (91,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %
Отделяемое конъюнктивы		100 (83,2 – 100) %	100 (83,2 – 100) %
Моча (первая порция)		100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Секрет предстательной железы		100 (83,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %

Вид исследуемого материала	Микроорганизм	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта	<i>C. trachomatis</i>	100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки		100 (83,2 – 100) %	100 (91,2 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки		100 (91,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %
Отделяемое конъюнктивы		100 (83,2 – 100) %	100 (83,2 – 100) %
Моча (первая порция)		100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Секрет предстательной железы		100 (83,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта	<i>M. genitalium</i>	100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки		–	–
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки		–	–
Отделяемое конъюнктивы		–	–
Моча (первая порция)		100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Секрет предстательной железы		100 (83,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта	<i>T. vaginalis</i>	100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки		–	–
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки		–	–
Отделяемое конъюнктивы		–	–
Моча (первая порция)		100 (96,4 – 100) %	100 (99,0 – 100) %
Секрет предстательной железы		100 (83,2 – 100) %	100 (95,5 – 100) %

Оценка погрешности количественного определения в образцах биологического материала

Для оценки погрешности количественного определения набора реагентов были исследованы образцы биологического материала (см. табл. 9):

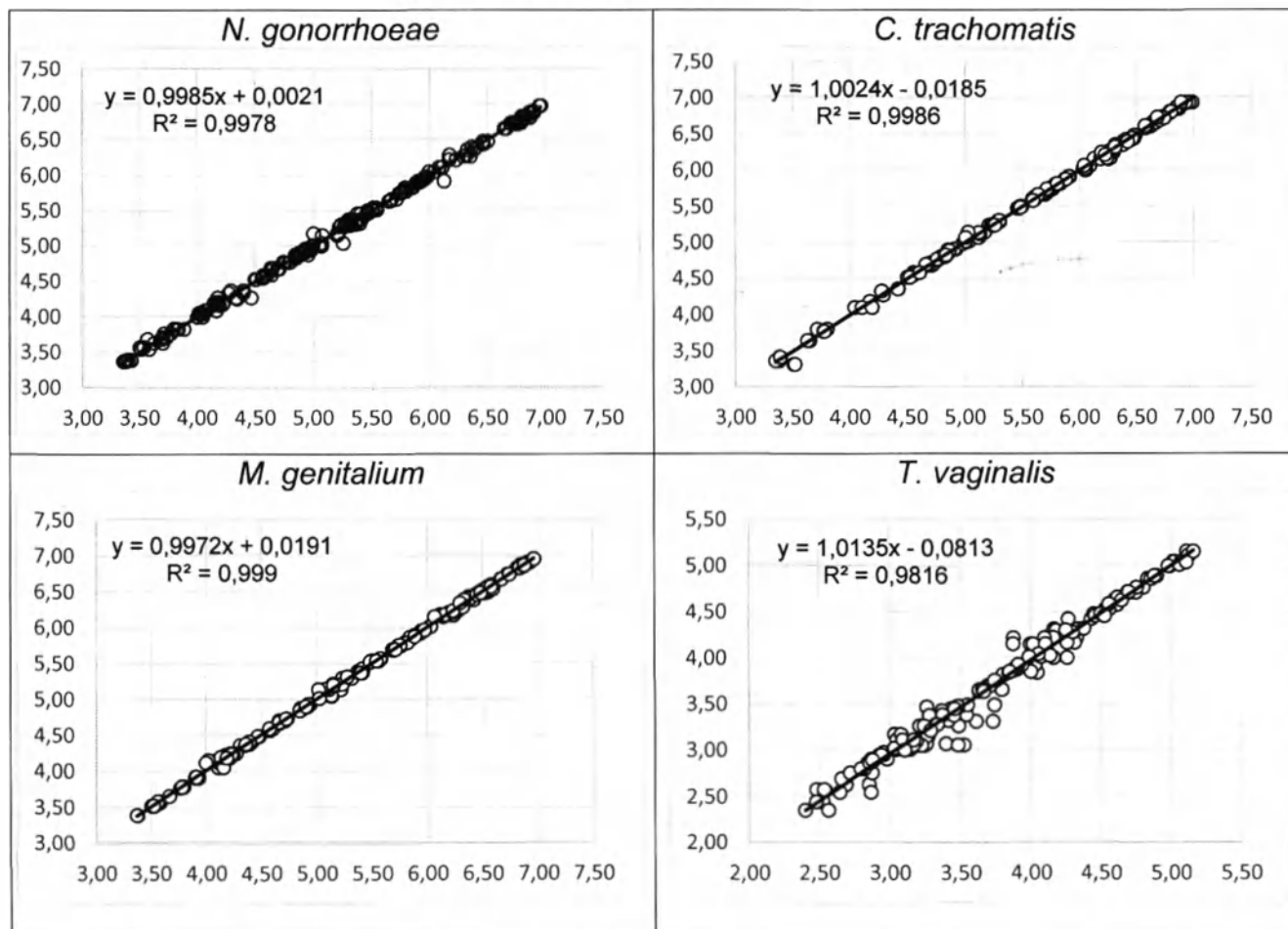
Таблица 9

Вид исследуемого материала	Количество образцов
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта, содержащие ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $2,31 \times 10^3$ до $9,36 \times 10^6$ ГЭ/мл	95
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта, содержащие ДНК <i>C. trachomatis</i> в концентрации от $2,04 \times 10^3$ до $8,6 \times 10^6$ ГЭ/мл	94
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта, содержащие ДНК <i>M. genitalium</i> в концентрации от $2,47 \times 10^3$ до $9,03 \times 10^6$ ГЭ/мл	93

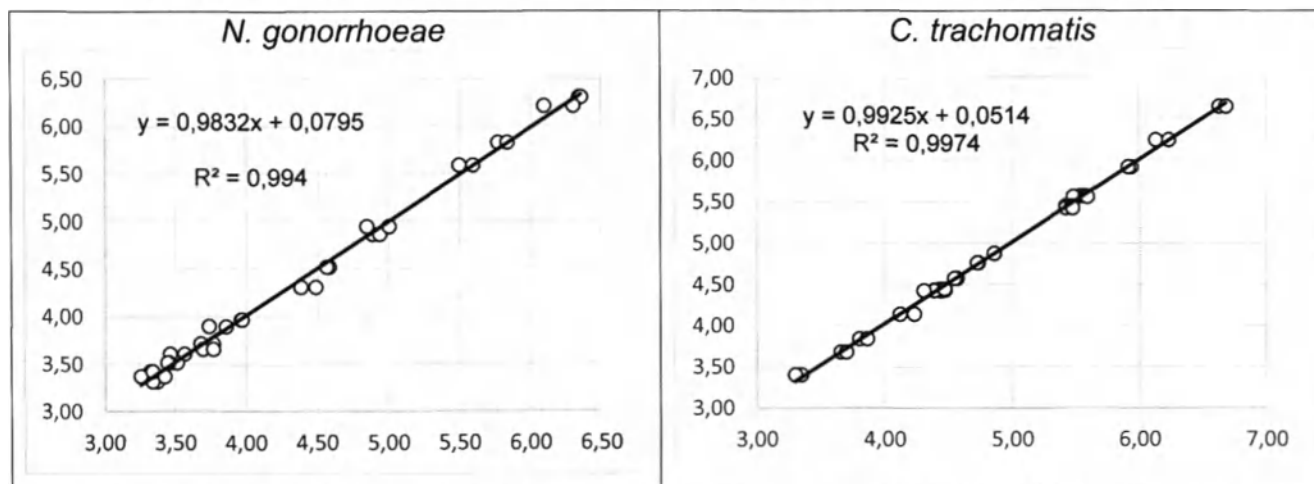
Вид исследуемого материала	Количество образцов
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, содержащие ДНК <i>T. vaginalis</i> в концентрации от $2,25 \times 10^2$ до $1,4 \times 10^5$ ГЭ/мл	93
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки, содержащее ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $2,07 \times 10^3$ до $2,01 \times 10^6$ ГЭ/мл	18
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки, содержащее ДНК <i>S. trachomatis</i> в концентрации от $2,56 \times 10^3$ до $4,48 \times 10^6$ ГЭ/мл	18
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки, содержащее ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $2,1 \times 10^3$ до $6,3 \times 10^6$ ГЭ/мл	36
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки, содержащее ДНК <i>S. trachomatis</i> в концентрации от $2,21 \times 10^3$ до $7,6 \times 10^6$ ГЭ/мл	36
Отделяемое конъюнктивы, содержащее ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $2,58 \times 10^3$ до $8,75 \times 10^6$ ГЭ/мл	18
Отделяемое конъюнктивы, содержащее ДНК <i>S. trachomatis</i> в концентрации от $7,74 \times 10^3$ до $6,16 \times 10^6$ ГЭ/мл	18
Моча (первая порция), содержащая ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $3,49 \times 10^3$ до $6,76 \times 10^6$ ГЭ/мл	92
Моча (первая порция), содержащая ДНК <i>S. trachomatis</i> в концентрации от $3,02 \times 10^3$ до $7,68 \times 10^6$ ГЭ/мл	91
Моча (первая порция), содержащая ДНК <i>M. genitalium</i> в концентрации от $3,37 \times 10^3$ до $9,54 \times 10^6$ ГЭ/мл	93
Моча (первая порция), содержащая ДНК <i>T. vaginalis</i> в концентрации от $2,01 \times 10^2$ до $1,09 \times 10^5$ ГЭ/мл	92
Секрет предстательной железы, содержащий ДНК <i>N. gonorrhoeae</i> в концентрации от $2,18 \times 10^3$ до $6,0 \times 10^6$ ГЭ/мл	17
Секрет предстательной железы, содержащий ДНК <i>S. trachomatis</i> в концентрации от $2,17 \times 10^3$ до $5,97 \times 10^6$ ГЭ/мл	18
Секрет предстательной железы, содержащий ДНК <i>M. genitalium</i> в концентрации от $2,4 \times 10^3$ до $6,55 \times 10^6$ ГЭ/мл	17
Секрет предстательной железы, содержащий ДНК <i>T. vaginalis</i> в концентрации от $2,04 \times 10^2$ до $1,0 \times 10^5$ ГЭ/мл	17

Корреляция значений концентраций ДНК *N. gonorrhoeae*, ДНК *S. trachomatis*, ДНК *M. genitalium* и ДНК *T. vaginalis* (в Ig ГЭ/мл), полученных при исследовании образцов с использованием набора реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV и референтного набора реагентов «АмплиПрайм® NCMT» (РУ № РЗН 2015/3168), представлена на рисунках А-Е.

Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта



Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки



Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки

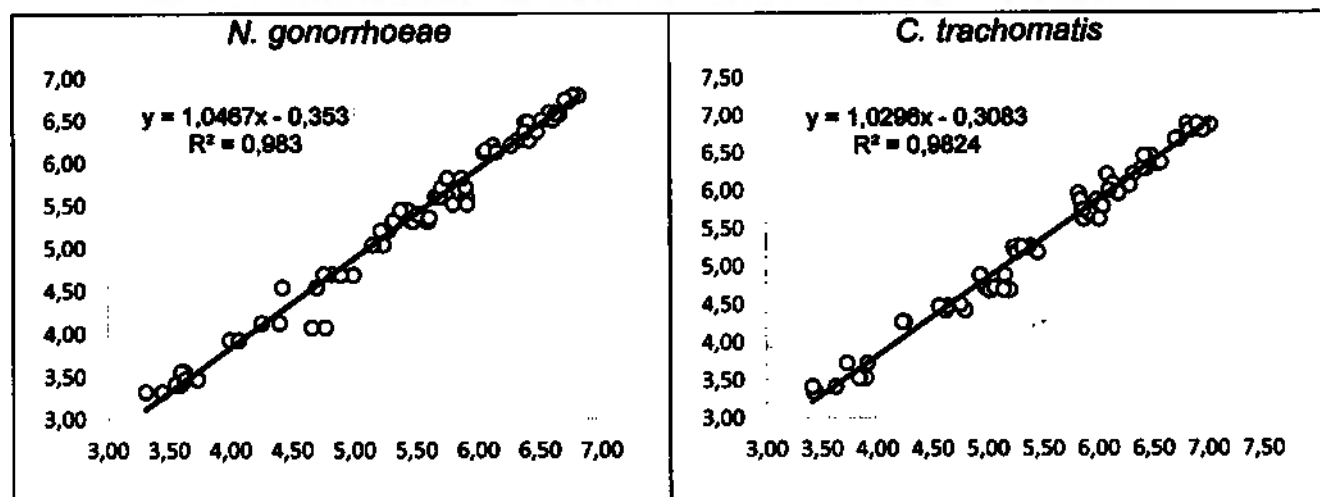


Рисунок Г

Отделяемое конъюнктивы

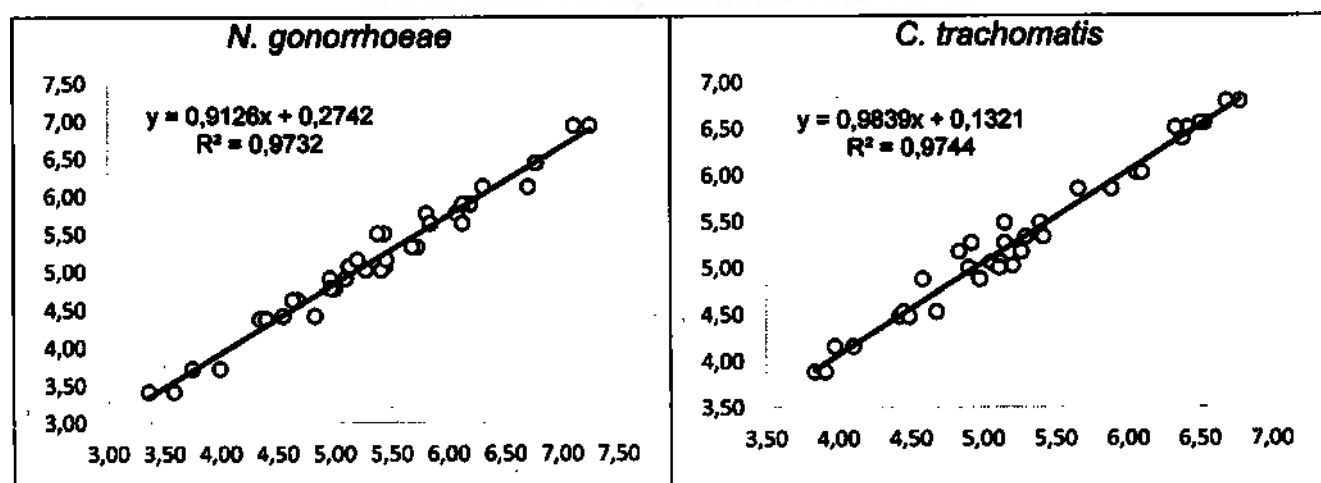
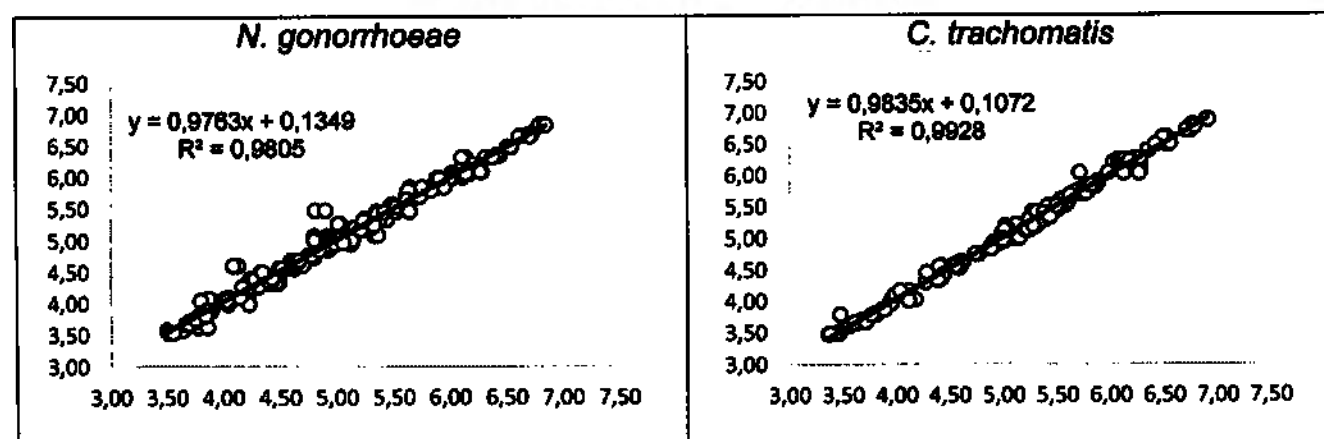


Рисунок Д

Моча (первая порция)



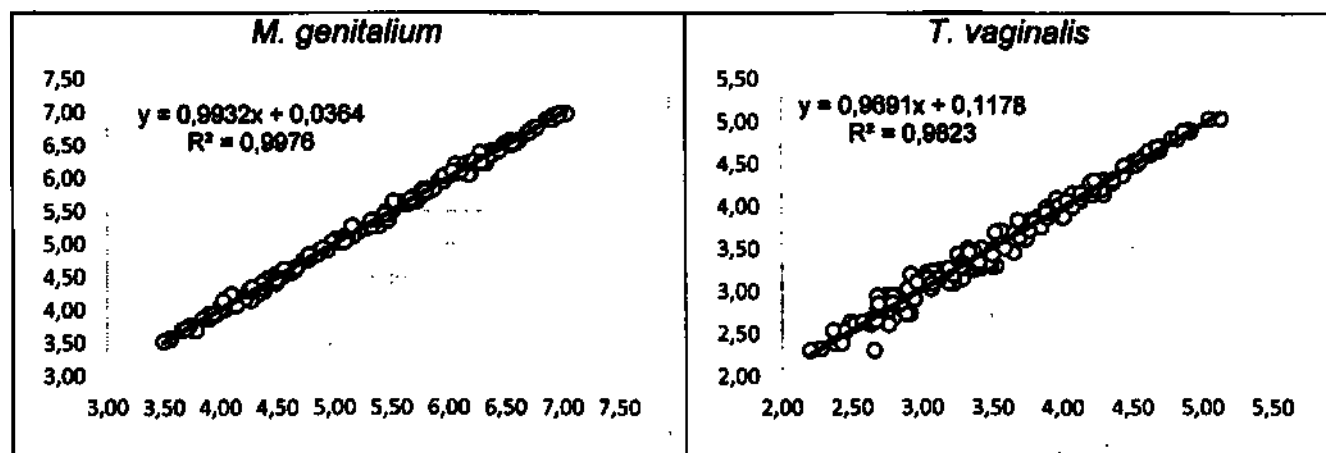
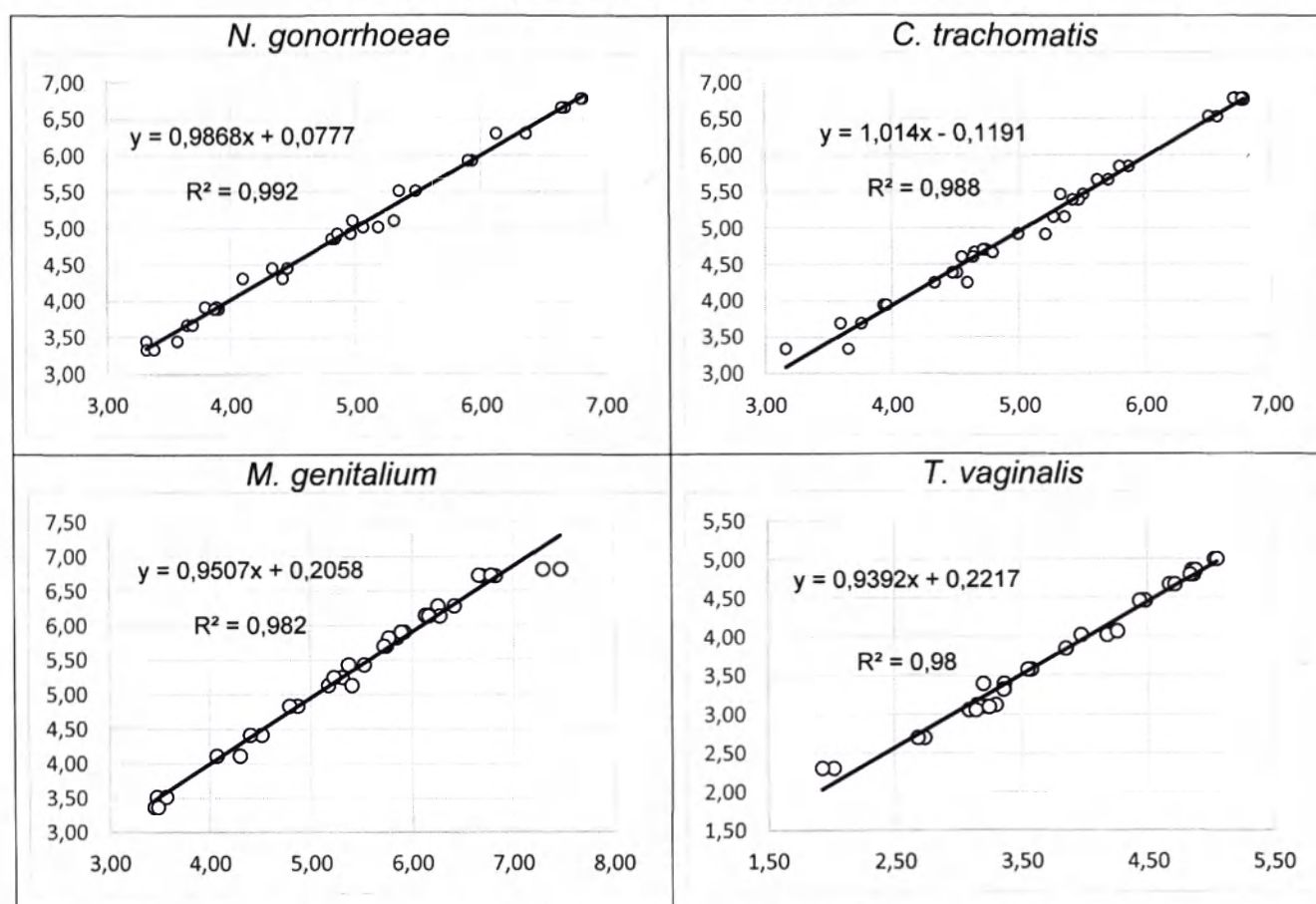


Рисунок Е

Секрет предстательной железы



МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-

эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» 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».

Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории должна быть от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

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

При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения набора риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку¹, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

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.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Транспортная среда для транспортирования и хранения исследуемого биологического материала, содержащая консервант (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (РУ № ФСР 2009/05514)).
2. Зонд для взятия исследуемого биологического материала, однократного применения, стерильный.
3. Емкость для взятия, транспортирования и хранения мочи, секрета предстательной железы, однократного применения.

¹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

Предварительная подготовка исследуемого материала

4. Транспортная среда для транспортирования и хранения биологического материала, содержащая консервант (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (РУ № ФСР 2009/05514)).
5. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.
6. Завинчивающиеся крышки к пробиркам.
7. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл.
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.
9. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.
10. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 10 тыс g.
11. Вортекс.
12. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.
13. Автоматические дозаторы переменного объема.
14. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
15. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
16. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

17. Комплекты реагентов для экстракции ДНК: «ДНК-сорб-АМ» (РУ № ФСР 2007/00183) или «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» (РУ № РЗН 2016/3920).
18. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.
19. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
20. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

21. Одноразовые полипропиленовые пробирки при работе с

формами FRT-96F и FRT-288F:

- а) завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл – 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, или 96-луночные плашки с объемом лунки 0,2 мл с прозрачной самоклеящейся пленкой – при использовании прибора планшетного типа;
 - в) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – при использовании прибора роторного типа.
22. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 и до 200 мкл.
23. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл.
24. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс).
25. Вортекс.
26. Автоматические дозаторы переменного объема.
27. Автоматические станции для приготовления и дозирования реакционных смесей при работе с формами FRT-96F и FRT-288F. Например, анализатор автоматический модульный Freedom EVO (TECAN Schweiz AG («ТЕКАН Швайц АГ»), Швейцария).
28. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», совместимый с ПО «AmpliSens® RealTime Soft» версии 1.0 или выше. Например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США), ДТпрайм («ДНК-технология», Россия).
29. Холодильник от 2 до 8 °C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °C.
30. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
31. Емкость для сброса наконечников.
32. ПО для запуска амплификации и автоматической обработки результатов «AmpliSens® RealTime Soft» версии 1.0 или выше, которое располагается на сайте www.amplisens.ru.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служат:

- соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры),
- отделяемое слизистой оболочки прямой кишки,
- отделяемое слизистой оболочки ротоглотки,
- отделяемое конъюнктивы,
- моча (первая порция),
- секрет предстательной железы.

Отделяемое слизистой оболочки влагалища

Взятие материала производят с помощью зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой. Рабочей частью зонда-тампона вращательным движением проводят по заднему нижнему своду или боковым стенкам влагалища, максимально полно собирая отделяемое. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи и крови. Рабочую часть зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда или необходимости удалить его из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть зонда к внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Взятие материала производят с помощью цервикальной цитощетки, либо универсального гинекологического зонда в

пробирку с транспортной средой. Перед взятием материала удаляют слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки стерильным марлевым тампоном, вводят рабочую часть зонда/цитощетки в цервикальный канал и делают два-три полных оборота по часовой стрелке.

Рабочую часть цитощетки/зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы цитощетки/зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть цитощетки/зонда или необходимости удалить ее из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть цитощетки/зонда к внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части цитощетки/зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры

Перед взятием соскоба из уретры необходимо обработать наружное отверстие уретры тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. Производят массаж уретры, при наличии свободно стекающих из уретры выделений удаляют их сухим тампоном. Вводят зонд в уретру на глубину 1-2 см. Несколькими вращательными движениями производят соскоб эпителиальных клеток и переносят зонд в пробирку с транспортной средой.

Рабочую часть зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда или необходимости удалить его из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть зонда к внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки

Взятие материала производят с помощью зонда-тампона в пробирку с транспортной средой. Перед взятием материала проводят тщательный туалет с мылом и водой области вокруг анального отверстия. Вводят зонд-тампон в анальное отверстие на глубину 3-4 см. Рабочей частью зонда вращательным движением проводят по поверхности боковых стенок ампулы прямой кишки, максимально полно собирая отделяемое.

Рабочую часть зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда или необходимости удалить его из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть зонда к внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки

Материал забирают сухим стерильным зондом с тампоном вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки и помещают в пробирку с транспортной средой.

Рабочую часть зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда или необходимости удалить его из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть зонда к

внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Отделяемое конъюнктивы

Материал забирают сухим стерильным зондом с тампоном под местной анестезией в транспортную среду. Оттянув нижнее веко, вращательными движениями проводят зонд 4-5 раз по конъюнктиве, захватывая внешний и внутренний углы глаза.

Рабочую часть зонда обламывают, оставляя не более 1 см пластиковой основы зонда в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда или необходимости удалить его из пробирки, необходимо максимально полно смыть исследуемый материал в пробирку с транспортной средой, прижав рабочую часть зонда к внутренней стороне пробирки и вращая ее по 5-10 раз по часовой и против часовой стрелки.

Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда.

Хранить и транспортировать полученный биологический материал необходимо в соответствии с инструкцией к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Моча (первая порция)

У **женщин** для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15-25 мл в специальный сухой стерильный флакон или контейнер на 50-60 мл. Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов, чтобы в мочу не попали выделения из них. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи отделяемым из влагалища. Также не следует производить сбор мочи во время менструации.

У **мужчин** при мочеиспускании необходимо, полностью

оттянув кожную складку, освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15-25 мл в специальный сухой стерильный флакон на 50-60 мл.

Допускается хранение и транспортирование образцов мочи до проведения предобработки:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Секрет предстательной железы

Перед получением секрета простаты головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном. Секрет простаты забирают после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. После окончания массажа предстательной железы ее секрет в количестве 0,5-1 мл собирают в одноразовую стерильную сухую пластиковую пробирку объемом 2 мл или стерильный сухой контейнер объемом 50-60 мл.

При невозможности получить секрет сразу после массажа простаты, собирают первую порцию мочи (в которой содержится секрет предстательной железы) в количестве 15-25 мл (см. порядок сбора мочи).

Допускается хранение и транспортирование образцов секрета предстательной железы до проведения исследования:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Образцы соскобного материала или отделяемого слизистых

оболочек уrogenитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы, секрета предстательной железы не требуют предварительной подготовки.

Образцы мочи требуют предварительной подготовки.

Предобработка мочи

Взбалтывают флакон с мочой. Переносят 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугируют 5 мин при 10 тыс g. Полностью удаляют супернатант с помощью вакуумного отсасывателя с колбой-ловушкой, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. При наличии большого количества солей ресуспендируют только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл и затем снова концентрируют и удаляют супернатант. К осадку добавляют транспортную среду до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешивают содержимое на вортексе.

Допускается хранение образцов мочи до и после проведения предобработки:

- при температуре от 2 до 8 °C – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °C – в течение 1 недели;
- при температуре минус 70 °C – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для контроля эффективности экстракции ДНК и реакции амплификации в наборе реагентов предусмотрено использование внутреннего контрольного образца (ВКО), который добавляется в каждый биологический образец на этапе экстракции нуклеиновых кислот. По окончании реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов ДНК ВКО, говорит о достаточной эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибиторов ПЦР.

Ограничения по использованию проб

Непригодными для исследования являются образцы мочи и секрета предстательной железы, собранные ранее чем за 24 часа до момента доставки в лабораторию.

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и/или экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале, используемом для исследования (см. табл. 10).

Были протестированы модельные образцы соскобного материала и отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы, мочи, секрета предстательной железы без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Концентрация потенциально интерферирующих веществ указана в табл. 10.

В модельные образцы добавляли также стандартные образцы предприятия, содержащие ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, до концентраций каждой из мишеней, равных пределу обнаружения и нижней границе диапазона измерения.

Таблица 10

Вид исследуемого материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Максимальная концентрация интерферента в образце	Наличие интерференции
Соскобный материал и отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта	Эндогенные вещества	Муцин	150 мкг/мл	Не обнаружено
		Гемоглобин	300 мкг/мл	Не обнаружено
Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки	Эндогенные вещества	Фекалии	5 %	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Лубрикант «Contex Strong»	15 %	Не обнаружено
Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки	Экзогенные вещества	Мирамистин®	0,001 %	Не обнаружено
Отделяемое конъюнктивы	Экзогенные вещества	Дикаин	0,03 %	Не обнаружено
Секрет предстательной железы	Эндогенные вещества	Фруктоза	10 мг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Ибупрофен	300 мкг/мл	Не обнаружено
Моча (первая порция)	Эндогенные вещества	Альбумин	500 мг/л	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Азитромицин	1 мг/мл	Не обнаружено

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 из разных видов исследуемого материала используются комплекты реагентов:

- «ДНК-сорб-АМ» для экстракции ДНК из соскобного материала или отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы, мочи, секрета предстательной железы;
- «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» для экстракции ДНК из соскобного материала или отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, мочи.

Экстракцию ДНК из каждого исследуемого образца и контролей необходимо проводить в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-FL). В каждую группу экстрагируемых образцов необходимо включать по одному повтору отрицательного (ОК) и положительного (ПК) контролей. Контроли проходят все этапы ПЦР-исследования, начиная с этапа экстракции. ОК позволяет контролировать возможную контаминацию исследуемых образцов; ПК позволяет оценивать корректность прохождения исследования.

Объемы реагентов и образцов для экстракции

Объем ВКО-FL – 10 мкл в каждую пробирку (ВКО-FL входит в состав комплекта для экстракции).

Объем исследуемого образца – 100 мкл.

В пробирку ОК внести 100 мкл С– (входит в состав набора реагентов).

В пробирку ПК внести 100 мкл С+ (А) (входит в состав набора реагентов).

Объем элюции – 100 мкл. Допускается увеличение объема элюции до 200 мкл.

ФОРМА FRT-96**СОСТАВ**

Таблица 11

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Mix-NG/CT/MG/TV	Смесь специфичных олигонуклеотидов. Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета. Раскапана под воск	0,005	96 стрипованных пробирок
Buffer-DW	Буферный раствор с Taq-полимеразой. Прозрачная жидкость от бесцветного до красного цвета	0,48	1 пробирка
C–	Отрицательный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
C+ (A)	Положительный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка

ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» версия 1, дата выпуска 01.09.2020 – на электронном носителе или на официальном сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

Дополнительно прилагается оптически-прозрачная пленка для ПЦР в количестве не менее 1 штуки.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

А. Подготовка проб для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 20 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл

1. Отобрать (отделить) необходимое количество пробирок с **Mix-NG/CT/MG/TV** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов. Убедиться, что воск полностью покрывает раствор на дне пробирок. Если это не так, не использовать данные пробирки.
2. На поверхность воска внести по **5 мкл Buffer-DW**, при этом он не должен проваливаться под воск и смешиваться с **Mix-NG/CT/MG/TV**.
3. Внести в подготовленные пробирки по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых и контрольных 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. Отрезать необходимый размер оптически-прозрачной пленки для ПЦР, входящей в комплект, отделить защитную мембрану и плотно заклеить пробирки пленкой, избегая загрязнения поверхности пленки.

Б. Запуск амплификации

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

Примечания:

а) Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок пробирок на вортексе для стрипов или планшет.

б) В случае неполной загрузки амплификатора планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям его реакционного модуля.

2. Запустить программу амплификации:

а) либо с использованием ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft», согласно руководству по его применению;

Примечание – Информация, необходимая для работы ПО, содержится во вкладыше к набору реагентов.

б) либо в ручном режиме, запрограммировав детектирующий амплификатор для выполнения программы, указанной в табл. 12, согласно инструкции по его применению.

Таблица 12

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс»

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, Cy5.5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. Если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно удалить из данной программы первый шаг (50 °C – 15 мин) для экономии времени.

В. Анализ и интерпретация результатов

Анализ и интерпретация результатов в качественном и количественном формате производятся ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» автоматически, на основании значений порогового цикла (Ct), полученных для исследуемых и контрольных образцов, и информации из вкладыша к используемой серии набора реагентов. ПО выдает концентрацию ДНК определяемых микроорганизмов в геномных эквивалентах в 1 мл исследуемого образца.

Возможные варианты интерпретации результатов исследуемых образцов указаны в табл. 13.

Таблица 13

Варианты интерпретации результатов
ДНК определяемых микроорганизмов не обнаружены
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов с указанием концентрации в диапазоне измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>M. genitalium</i> 18000 ГЭ/мл»
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов в концентрации менее нижней границы диапазона измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>T. vaginalis</i> менее 3 ГЭ/мл»
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов в концентрации более верхней границы диапазона измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>C. trachomatis</i> более 25 000 000 ГЭ/мл»
Невалидный

ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» проводит автоматическую оценку валидности контрольных образцов и ПЦР-исследования в целом. ПЦР-исследование считается валидным, если отсутствует сообщение об ошибке для С– и С+ (А).

Возможные ошибки, а также рекомендации по их устранению, указаны в табл. 14.

Таблица 14

Образец	Ошибка	Возможная причина	Рекомендации по устранению
ПК	«Невалидный С+(А)»	Ошибки на этапе экстракции и/или амплификации ДНК. Несоблюдение условий хранения набора реагентов	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
ОК	«Контаминация С—»	Вероятна контаминация лаборатории, реагентов или исследуемых образцов биологическим материалом или продуктами амплификации на каком-либо этапе ПЦР-исследования	Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
	«Невалидный С—»	Ошибки на этапе экстракции и/или амплификации ДНК. Несоблюдение условий хранения набора реагентов	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
Исследуемый образец	«Невалидный»	Низкая эффективность экстракции ДНК или ингибирование ПЦР в процессе амплификации	Необходимо повторить ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала

ФОРМА FRT-96F и FRT-288F**СОСТАВ**

Таблица 15

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Форма FRT-96F			
Mix-NG/CT/MG/TV	Смесь специфичных олигонуклеотидов. Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета	0,48	1 пробирка
Buffer-D	Буферный раствор с Taq-полимеразой. Прозрачная жидкость от бесцветного до красного цвета	0,48	1 пробирка
C–	Отрицательный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
C+ (A)	Положительный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Форма FRT-288F			
Mix-NG/CT/MG/TV	Смесь специфичных олигонуклеотидов. Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета	1,44	1 пробирка
Buffer-D	Буферный раствор с Taq-полимеразой. Прозрачная жидкость от бесцветного до красного цвета	1,44	1 пробирка
C–	Отрицательный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
C+ (A)	Положительный контроль. Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка

ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» версия 1, дата выпуска 01.09.2020 – на электронном носителе или на официальном сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

А. Подготовка проб для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 20 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

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

1. Перемешать содержимое пробирок с **Mix-NG/CT/MG/TV** и **Buffer-D**, осадить капли на вортексе.

2. В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь, смешав необходимое количество **Mix-NG/CT/MG/TV** и **Buffer-D** согласно табл. 16. Перемешать и осадить капли на вортексе.

Таблица 16

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
Mix-NG/CT/MG/TV	$5 \cdot (N+K+1)$	5 – объем реагента, требующийся на одну реакцию, N – количество исследуемых образцов, K – количество контролей, 1 – запас на одну реакцию
Buffer-D	$5 \cdot (N+K+1)$	

3. Отобрать необходимое количество индивидуальных или стрипованных пробирок для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

4. Внести в каждую пробирку по 10 мкл приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.
5. В подготовленные пробирки внести по 10 мкл проб ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых и контрольных 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.

Б. Запуск амплификации

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

Примечания:

- а) Перед постановкой в амплификатор планшетного типа рекомендуется осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
- б) В случае неполной загрузки амплификатора планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям его реакционного модуля.

2. Запустить программу амплификации:

- а) либо с использованием ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft», согласно руководству по его применению;

Примечание – Информация, необходимая для работы ПО, содержится во вкладыше к набору реагентов.

- б) либо в ручном режиме, запрограммировав детектирующий амплификатор для выполнения программы, указанной в табл. 17, согласно инструкции по его применению.

Таблица 17

**Единая программа амплификации и детекции
флуоресцентного сигнала «АмплиСенс»**

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, Cy5.5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. Если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно удалить из данной программы первый шаг (50 °C – 15 мин) для экономии времени.

В. Анализ и интерпретация результатов

Анализ и интерпретация результатов в качественном и количественном формате производятся ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» автоматически, на основании значений порогового цикла (C_t), полученных для исследуемых и контрольных образцов, и информации из вкладыша к используемой серии набора реагентов. ПО выдает концентрацию ДНК определяемых микроорганизмов в геномных эквивалентах в 1 мл исследуемого образца.

Возможные варианты интерпретации результатов исследуемых образцов указаны в табл. 18.

Таблица 18

Варианты интерпретации результатов
ДНК определяемых микроорганизмов не обнаружены
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов с указанием концентрации в диапазоне измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>M. genitalium</i> 18000 ГЭ/мл»
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов в концентрации менее нижней границы диапазона измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>T. vaginalis</i> менее 3 ГЭ/мл»
Обнаружена ДНК одного или нескольких определяемых микроорганизмов в концентрации более верхней границы диапазона измерения набора реагентов. Например: «обнаружена ДНК <i>C. trachomatis</i> более 25 000 000 ГЭ/мл»
Невалидный

ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» проводит автоматическую оценку валидности контрольных образцов и ПЦР-исследования в целом. ПЦР-исследование считается валидным, если отсутствует сообщение об ошибке для С– и С+ (А).

Возможные ошибки, а также рекомендации по их устранению, указаны в табл. 19.

Таблица 19

Образец	Ошибка	Возможная причина	Рекомендации по устранению
ПК	«Невалидный С+(А)»	Ошибки на этапе экстракции и/или амплификации ДНК. Несоблюдение условий хранения набора реагентов	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
ОК	«Контаминация С–»	Вероятна контаминация лаборатории, реагентов или исследуемых образцов биологическим материалом или продуктами амплификации на каком-либо этапе ПЦР-исследования	Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
	«Невалидный С–»	Ошибки на этапе экстракции и/или амплификации ДНК. Несоблюдение условий хранения набора реагентов	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
Исследуемый образец	«Невалидный»	Низкая эффективность экстракции ДНК или ингибирование ПЦР в процессе амплификации	Необходимо повторить ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

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

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

Хранение.

Форма FRT-96. Хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С. Mix-NG/CT/MG/TV хранить в защищенном от света месте.

Форма FRT-96F и Форма FRT-288F. Хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. Mix-NG/CT/MG/TV хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, либо по e-mail: obtk@pcr.ru. Отзывы и предложения о продукции AmpliSens® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.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 набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Директор
ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского

К.Э. Соболев

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R: Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y)* 1993, 11(9):1026-1030.
2. Van Looveren M, Vandamme P, Wuyts W, Ieven M, Goossens H: Organization of the ribosomal operon 16S-23S gene spacer region in representatives of *Neisseria gonorrhoeae*. *Syst Appl Microbiol.* 2000 Apr;23(1):9-14.
3. Pickett MA, Everson JS, Peard PJ, Clarke IN: The plasmids of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydophila pneumoniae* (N16): accurate determination of copy number and the paradoxical effect of plasmid-curing agents. *Microbiology.* 2005 Mar;151(Pt 3):893-903.
4. Kengne P1, Veas F, Vidal N, Rey JL, Cuny G.: *Trichomonas vaginalis*: repeated DNA target for highly sensitive and specific polymerase chain reaction diagnosis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1994, 40(6): 819-31.
5. Carlton J.M. et al.: Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*. *Science* 2007, 315(5809):207-12.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Содержимого достаточно для проведения n тестов



Код партии



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Обратитесь к инструкции по применению



Дата изменения



Не допускать воздействия солнечного света



Предел температуры



Дата изготовления



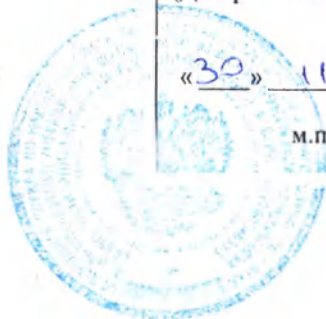
Изготовитель

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 39
тридцать девять лист 06

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 178/21 от 16.11.2021 г.)

30 « 11 » 2021 г.  А.О.Лисицына

м.п.



Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 39 листа(ов)
Директор ГБУЗ МО МНИИ
им.М.Ф.Владимирского
Соболев К.З.



УТВЕРЖДАЮ

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



В.Г. Акимкин

«*01*» *октября* 20*21* г.

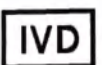
РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

по применению программного обеспечения
«AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft»

АмплиСенс®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, улица Новогиреевская, дом 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	4
ПРИНЦИП РАБОТЫ.....	4
УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ	5
Требования к техническим средствам оператора	5
Требования к входным данным.....	5
Требования к информационной безопасности	5
ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ.....	5
Загрузка ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» ..	5
Формирование и запуск постановки.....	6
Анализ и интерпретация результатов	7
Авторизация результатов ПЦР-исследования.....	9
Формирование бланка с результатами.....	9
СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ	10
ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ	10

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применяются следующие сокращения и обозначения:

ГЭ	- геномные эквиваленты
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
Детектирующий амплификатор	- прибор для проведения амплификации с детекцией в режиме «реального времени»
ИТ	- информационные технологии
ПК	- персональный компьютер
ПО	- программное обеспечение, программа
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)
C-	- отрицательный контроль
C+	- положительный контроль
NG/CT/MG/TV	- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Наименование ПО: «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft».

Версия ПО: 1 (номера минорных и незначимых изменений не указаны).

Дата выпуска ПО: 01.09.2020.

Способ размещения и доступа ПО: входит в состав набора реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV. ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» и руководство оператора предоставляются на официальном сайте Изготовителя или на цифровом носителе.

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

Порядок нумерации версий ПО: Обозначение версии состоит из трех чисел, разделенных точками, означающих нумерацию мажорных, минорных и незначимых изменений соответственно. Мажорные изменения означают изменение функционального назначения, принципа работы, структуры и функций составных частей ПО; минорные изменения означают изменение названий и обозначений в информационном блоке ПО; незначимые изменения означают изменения (включая исправление ошибок) и доработки, не изменяющие функции, описанные для мажорных и минорных изменений.

Примечание – При обозначении версии ПО в составе набора реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV номера минорных и незначимых изменений не указываются. Полная версия ПО, включая номера минорных и незначимых изменений, указана во вкладыше к набору реагентов.

ПО соответствует требованиям ГОСТ Р ИСО/МЭК 9126, ГОСТ 28195, ГОСТ Р 51188, п. 4.3 ГОСТ Р МЭК 62304.

НАЗНАЧЕНИЕ

Программное обеспечение «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» версия 1 предназначено для автоматического программирования детектирующего амплификатора и автоматической обработки и интерпретации результатов ПЦР-исследования при использовании набора реагентов AmpliSens® NG/CT/MG/TV (далее – набор реагентов). ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» представляет собой программу, содержащую критерии анализа кривых флуоресценции и алгоритм интерпретации результатов, а также информацию об аналитах, используемом биологическом материале, реагентах и контрольных образцах, программе амплификации, указанной в инструкции к набору реагентов.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Для работы ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» необходимо ПО «AmpliSens® RealTime Soft».

В соответствии с информацией об используемом биологическом материале, реагентах, контрольных образцах и программе амплификации, указанной в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft», ПО «AmpliSens® RealTime Soft» осуществляет запуск детектирующих амплификаторов, используемых для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». После завершения амплификации ПО «AmpliSens® RealTime Soft» визуализирует полученные флуоресцентные кривые и осуществляет автоматический экспорт полученных данных для контрольных и исследуемых образцов в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft».

ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» проводит автоматическую интерпретацию результатов с использованием полученных значений пороговых циклов (C_t), включая расчет концентраций и оценку валидности контрольных образцов и ПЦР-исследования в целом. Полученные в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» результаты автоматически передаются в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» для их визуализации оператору.

Допустимо программирование и запуск детектирующего амплификатора без использования ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» и ПО «AmpliSens® RealTime Soft», соответственно. В этом случае файл с данными, полученный на детектирующем амплификаторе, возможно экспортировать в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» для дальнейшей автоматической интерпретации результатов.

Технологии искусственного интеллекта в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» не используются.

УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ

Требования к техническим средствам оператора

Персональный компьютер с предустановленным ПО «AmpliSens® RealTime Soft». Системные требования к ПК указаны в руководстве оператора ПО «AmpliSens® RealTime Soft».

Требования к входным данным

Обозначения ячеек исследуемых и контрольных образцов в интерфейсе ПО «AmpliSens® RealTime Soft» должны строго соответствовать их фактическому расположению в реакционном блоке детектирующего амплификатора.

Требования к информационной безопасности

Требования к информационной безопасности указаны в руководстве оператора ПО «AmpliSens® RealTime Soft».

ПО не содержит и не обрабатывает персональные данные пациентов.

Влияние угроз и уязвимостей ПО на пользователей или пациентов отсутствует.

В рамках ИТ-инфраструктуры, использующей ПО, необходимо предпринять меры обеспечения информационной безопасности и кибербезопасности для непрерывного функционирования программного обеспечения и исключения возможности несанкционированного доступа к информации в программном обеспечении.

Необходимо обеспечить наличие регулярных архивных копий ПО (в т.ч. базы данных) с возможностью их восстановления.

Доступ к ПО осуществляется с помощью авторизации пользователя (учетная запись). Уровень доступа пользователей должен быть обеспечен исходя из требуемого функционала.

На рабочих станциях и на серверах, где размещено ПО, необходимо использовать средства защиты от вредоносных программ.

ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Загрузка ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» в ПО «AmpliSens® RealTime Soft»

Загрузка ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» при наличии подключения ПК к сети Интернет производится автоматически при запуске ПО «AmpliSens® RealTime Soft».

При отсутствии подключения ПК к сети Интернет загрузка в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» производится вручную с электронного носителя путем выбора файла

с пакетом ПО, включающим ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft». Для этого в меню **Постановки** выбрать **Пакеты ПО – Загрузить пакет**.

После завершения загрузки установленное ПО отображается в списке **Пакеты ПО** и доступно для формирования и расчета постановок.

Версия ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» отображается в меню **Каталог методик** в столбце **Версия**, а также в меню **Постановки – Пакеты ПО** после выбора пакета (версия ПО отображается с указанием номеров минорных и незначимых изменений).

Формирование и запуск постановки

Формирование постановки производится с использованием интерфейса ПО «AmpliSens® RealTime Soft». В соответствии с руководством оператора к ПО «AmpliSens® RealTime Soft» необходимо выполнить следующие действия:

1. Открыть ПО «AmpliSens® RealTime Soft».
2. Зарегистрировать серию набора реагентов, используя информацию из вкладыша к данной серии набора реагентов.
3. При необходимости сформировать список образцов для ПЦР-исследования с применением набора реагентов (вручную или загрузить из лабораторных информационных систем).
4. Выбрать детектирующий амплификатор и необходимый реакционный блок.
5. Сформировать постановку. Для этого во вкладке, соответствующей выбранному прибору, выбрать **Постановка – Новая постановка**:
 - 5.1. Выбрать из списка доступных программных обеспечений «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» и серию набора реагентов.
 - 5.2. На схематическом изображении реакционного блока детектирующего амплификатора в используемых ячейках разместить образцы из списка, сформированного в п. 3 (или ввести их обозначения вручную), и контрольные образцы.
 - 5.3. Сохранить постановку нажатием кнопки **Сохранить**.
6. Для автоматического запуска амплификации нажать кнопку **Старт**. Ход амплификации отобразится в виде кривых накопления флуоресценции.

Примечание – Допускается программирование и запуск детектирующего амплификатора вручную в соответствии с программой амплификации, указанной в инструкции к набору реагентов.

Анализ и интерпретация результатов

После завершения амплификации ПО «AmpliSens® RealTime Soft» автоматически визуализирует кривые флуоресценции.

Примечание – Если детектирующий амплификатор был запрограммирован и запущен вручную, необходимо сформировать постановку, как описано в разделе «Формирование и запуск постановки», нажать кнопку **Выбрать файл** для указания пути к файлу с детектирующего амплификатора и нажать **Рассчитать**.

Соответствие названий флуорофоров и каналов детекции в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» указаны в таблице 1.

Таблица 1

Флуорофор	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
Название канала детекции в ПО «AmpliSens® RealTime Soft»	FAM	HEX	ROX	Cy5	Cy5.5

В соответствии с критериями анализа кривых флуоресценции, указанными в ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft», автоматически определяется статус каждой кривой по каждому каналу детекции: положительный, отрицательный или сомнительный.

Статус присваивается на основании критериев, оценивающих отклонения формы кривой накопления флуоресценции от нормальной (S-образной) формы, например:

- наличие неспецифических скачков флуоресцентного сигнала;
- низкое соотношение сигнал/шум;
- кинетика накопления флуоресцентного сигнала, отличная от S-образной.

Сомнительные кривые классифицируются на «Сомнительно +» и «Сомнительно –», что следует интерпретировать как:

«Сомнительно +» – наиболее вероятно, что для кривой получен положительный результат, требуется подтверждение.

«Сомнительно –» – наиболее вероятно, что для кривой получен отрицательный результат, требуется подтверждение.

Каждой сомнительной кривой необходимо присвоить статус: «Положительный», «Отрицательный» или сделать заключение о необходимости повторного исследования данного образца. Для этого:

1. Отобразить кривые по всем каналам детекции в режиме отображения «сырых» данных с прибора (режим «RAW»).

ВНИМАНИЕ! Не следует принимать решение о статусе сомнительной кривой на основании просмотра нормализованных кривых (режим «Norma»), т.к. в данном режиме отображаются флуоресцентные кривые после математической обработки.

2. Отфильтровать кривые со статусом «Сомнительный» по каждому каналу. В скобках рядом с названием канала указано количество сомнительных кривых.
3. В списке образцов последовательно присвоить кривым статус «Положительный», «Отрицательный» или сделать заключение о необходимости повторного исследования данного образца («Перестановка» – образцы будут возвращены в список образцов для возможности повторного исследования).

ВНИМАНИЕ! Присвоение статуса сомнительным кривым производится на основании экспертного мнения сотрудника лаборатории, осуществляющего анализ результатов. В случае если для сомнительной флуоресцентной кривой не удастся принять однозначного решения по ее статусу, рекомендуется провести повторное исследование для данного образца.

После просмотра кривых флуоресценции и присвоения статуса всем сомнительным флуоресцентным кривым необходимо нажать кнопку **Результат** для интерпретации результатов.

Во вкладке **AmpliSens NG/CT/MG/TV Soft** автоматически будут выведены результаты, полученные ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» на основании значений порогового цикла (Ct) для исследуемых образцов, включая оценку валидности контрольных образцов и ПЦР-исследования в целом.

Если постановка валидна (т.е. в строке **Статус** отсутствует сообщение об ошибке для C– и C+ (A)), ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» проводит оценку валидности каждого исследуемого образца.

Результаты для исследуемых образцов выводятся в виде таблицы во вкладке **AmpliSens NG/CT/MG/TV Soft** по каждому выявляемому микроорганизму в качественном и количественном формате.

Для валидных исследуемых образцов ПО проводит расчет концентрации ДНК определяемых микроорганизмов в геномных эквивалентах в 1 мл исследуемого образца (ГЭ/мл).

Возможные варианты интерпретации результатов исследуемых образцов указаны в таблице 2.

Таблица 2

Качественное определение	Количественное определение
Обнаружено	< (значение нижней границы линейного диапазона)
	численное значение в ГЭ/мл
	> (значение верхней границы линейного диапазона)
Не обнаружено	-
Невалидный	-

При невалидной постановке во вкладке **AmpliSens NG/CT/MG/TV Soft** отображается причина ее невалидности (Невалидный C+(A) / Контаминация C– / Невалидный C–), результаты для исследуемых образцов не выводятся.

Авторизация результатов ПЦР-исследования

После вывода результатов для исследуемых образцов во вкладке **AmpliSens NG/CT/MG/TV Soft** необходимо авторизовать (подтвердить) или отвергнуть (отклонить) результаты автоматической интерпретации. Возможны следующие действия в соответствии с руководством оператора к ПО «AmpliSens® RealTime Soft»:

1. Отправка образца на повторное ПЦР-исследование.
2. Отмена результата ПЦР-исследования всех образцов в постановке.
3. Авторизация результата ПЦР-исследования каждого образца.
4. Авторизация результата ПЦР-исследования всех образцов в постановке.
5. Выгрузка результатов ПЦР-исследования в виде файла в формате CSV (в формате электронной таблицы).
6. Выгрузка постановки в отдельный файл для просмотра в ПО «AmpliSens® RealTime Soft».
7. Закрытие вкладки с результатами ПЦР-исследования. Вкладка **AmpliSens NG/CT/MG/TV Soft** будет закрыта, результаты ПЦР-исследования будут сохранены. Для возвращения к результатам ПЦР-исследования необходимо во вкладке **Список постановок** выбрать из списка необходимую постановку и открыть ее двойным щелчком левой кнопки мыши.

Формирование бланка с результатами

ВНИМАНИЕ! Только авторизованные результаты ПЦР-исследования, полученные с помощью ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft», передаются в ПО «AmpliSens® RealTime Soft» для формирования бланков с результатами для исследуемых образцов и/или передачи в лабораторную информационную систему.

Формирование бланков с результатами производится оператором в ПО «AmpliSens® RealTime Soft». Поиск, просмотр и печать бланков осуществляется через интерфейс ПО «AmpliSens® RealTime Soft» в соответствии с руководством оператора ПО «AmpliSens® RealTime Soft».

СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ

Сообщение	Причина сообщения	Дальнейшие действия оператора
Для AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft не размещен контроль С+ (А)	В реакционном блоке не размещен контроль С+ (А)	Указать положение С+ (А) в реакционном блоке, используя кнопку С+ (А)
Для AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft не размещен контроль С–	В реакционном блоке не размещен контроль С–	Указать положение С– в реакционном блоке, используя кнопку С–
Невалидный С+(А)	Получен невалидный результат анализа для контроля С+(А)	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
Контаминация С–	Получен невалидный результат анализа для контроля С–	Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК
Невалидный С–	Получен невалидный результат анализа для контроля С–	Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК

ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ

При выявлении сбоев в работе ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» рекомендуется обращаться в техническую поддержку. При обращении в техническую поддержку необходимо предоставить следующую информацию:

- Номер версии ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» и ПО «AmpliSens® RealTime Soft».
- Описание ошибки (текст или изображение).
- Описание действия/последовательности действий, при которых возникла ошибка.
- Контакты для обратной связи.

Сотрудники технической поддержки могут запросить дополнительную информацию для решения вопроса.

Телефон: +7(495) 974 96 46 в рабочие часы организации.

Почта: labhelp@cmd.su в режиме 24x7.

Разработчик ПО: Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

Руководство оператора и интерфейс программного обеспечения разработаны на русском языке и могут быть переведены на другие языки без внесения изменений в программный код ПО.

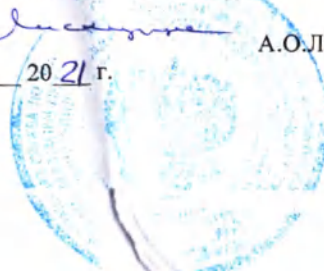
Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 11

единая лист сб

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 178/21 от 16.11.2021 г.)

А.О. Лисицына А.О. Лисицына
«14» 12 2021 г.

М.П.





Краткое руководство

набор реагентов **AmpliSens® NG/CT/MG/TV**

Форма FRT-96: **REF** H-4031-1-12

Форма FRT-96F: **REF** H-4032-1-1

Форма FRT-288F: **REF** H-4033-1-1

 ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642,
e-mail: amplisens@pcr.ru



ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Комплекты для экстракции:

- «ДНК-сорб-АМ»;
- «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО».

Контроли: Внутренний контрольный образец (ВКО-FL) – в каждом образце.

Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 положительный контроль (ПК), 1 отрицательный контроль (ОК).

ВНИМАНИЕ! Для некоторых видов исследуемого материала требуется предварительная подготовка.

Объем исследуемого образца, контролей и элюции

При экстракции с помощью «ДНК-сорб-АМ» добавить:

ВКО-FL	10 мкл	в каждую пробирку
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы; моча; секрет предстательной железы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
C+ (A)	100 мкл	в пробирку для ПК
C–	100 мкл	в пробирку для ОК
Элюция		
все образцы	100 мкл, допускается увеличение до 200 мкл	в каждую пробирку

Объем исследуемого образца, контролей и элюции

ри экстракции с помощью «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» добавить:

КО-FL	10 мкл	в каждую пробирку
оскобный материал или деляемое слизистых оболочек огенитального тракта, моча	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
е (А)	100 мкл	в пробирку для ПК
	100 мкл	в пробирку для ОК
люция		
е образцы	100 мкл, допускается увеличение до 200 мкл	в каждую пробирку

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ФОРМЫ FRT-96

Общий объем реакционной смеси: 20 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).

Контроли: 1 положительный контроль (ПК) и 1 отрицательный контроль (ОК).

Отобрать необходимое количество пробирок с **Mix-NG/CT/MG/TV** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов. Убедиться, что воск полностью покрывает раствор на дне пробирок. Если это не так, не использовать данные пробирки.

Добавить по 5 мкл

ffer-DW	в каждую пробирку, на поверхность воска, при этом он не должен проваливаться под воск и смешиваться с Mix-NG/CT/MG/TV
---------	--

Добавить по 10 мкл

об ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых и контрольных образцов	в пробирки для исследуемых образцов, ОК и ПК	Избегать попадания сорбента в реакционную смесь!
--	---	---

Отрезать необходимый размер оптически-прозрачной пленки для ПЦР, отделить защитную мембрану и плотно заклеить пробирки пленкой, избегая загрязнения поверхности пленки.

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ФОРМ FRT-96F И FRT-288F

Общий объем реакционной смеси: 20 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).

Контроли: 1 положительный контроль (ПК) и 1 отрицательный контроль (ОК).

Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси.

В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь:

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
NG/CT/MG/TV	$5 \cdot (N+K+1)$	5 – объем реагента, требующийся на одну реакцию, N – количество исследуемых образцов,
ffer-D	$5 \cdot (N+K+1)$	K – количество контролей, 1 – запас на одну реакцию

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

Отобрать необходимое количество индивидуальных или стрипованных пробирок для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов:

Добавить по 10 мкл

готовленной реакционной смеси	в каждую пробирку
-------------------------------	-------------------

Добавить по 10 мкл

об ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых и контрольных образцов	в пробирки для исследуемых образцов, ОК и ПК	Избегать попадания сорбента в реакционную смесь!
--	---	---

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Установить пробирки в ячейки реакционного модуля и запустить прибор. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

ВНИМАНИЕ! В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.

Запустить программу амплификации:

- либо с использованием ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft». Информация, необходимая для работы ПО, содержится во вкладыше к набору реагентов.
- либо в ручном режиме, запрограммировав детектирующий амплификатор для выполнения программы, указанной ниже.

Цикл	Единая программа амплификации «АмплиСенс»			
	Температура, °C	Время	Детекция флуоресц. сигнала по каналам для флуорофоров	Кол-во циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	

ВНИМАНИЕ! С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. Если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК возбудителя, можно удалить из данной программы первый шаг (50 °C – 15 мин) для экономии времени.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью ПО «AmpliSens® RealTime Soft» совместно с ПО «AmpliSens® NG/CT/MG/TV Soft» проанализировать полученные накопления флуоресцентного сигнала по каналам:

Флуорофор	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
Мишень для амплификации	ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	ДНК <i>C. trachomatis</i>	ДНК <i>M. genitalium</i>	ДНК ВКО	ДНК <i>T. vaginalis</i>

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 3
14/21 лист 2

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 178/21 от 16.11.2021 г.)



« 14 » 12 2021 г.
м.п.

А.О.Лисицына