



Интифика - наборы для молекулярных исследований

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Польниев Д.Г.
2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* методом ПЦР с
флуоресцентной детекцией в режиме реального времени
«Интифика *Mycoplasma genitalium*»

Интифика *Mycoplasma genitalium*

Форма S

кат. № 459-01

Интифика *Mycoplasma genitalium*

Форма T

кат. № 459-02

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ВКО	Внутренний контрольный образец
ПКО	Комплексный положительный контрольный образец
ОКО	Отрицательный контрольный образец
К+	Реакция с ПКО. Положительный контроль ПЦР
К-	Реакция с ОКО после экстракции НК. Отрицательный контроль экстракции
ПЦР-	Отрицательный контроль ПЦР
Mg	<i>Mycoplasma genitalium</i>
КОСМg	Контрольный отрицательный образец специфичности
Cq	Общее обозначение характеристической точки кривой флуоресценции (соответствует Ct, Cp)
CqMg	Пороговое значение Cq по каналу ROX при амплификации ДНК <i>Mycoplasma genitalium</i> , указывается во вкладыше к данной серии набора
CqПК	Пороговые значения Cq по каналу ROX при амплификации ПКО, указываются во вкладыше к данной серии набора
CqВК	Пороговое значение Cq по каналу FAM при амплификации ВКО, указывается во вкладыше к данной серии набора
CqК- /CqПЦР-	Пороговые значения Cq по каналу ROX при амплификации К- и/или ПЦР- – определяются при наличии контаминации

1. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1. Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» (далее набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*») предназначен для качественного выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* (далее *M. genitalium*) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени в препаратах нуклеиновых кислот (НК), полученных из клинических образцов мазков/соскобов со слизистых оболочек урогенитального тракта (уретры, цервикального канала и влагалища) и образцов первой порции мочи.

1.2. Функциональное назначение набора

Скрининг специфической патологии ИППП и мониторинг эффективности проведенного лечения.

1.3. Показания к применению

Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» может быть использован в клинической лабораторной диагностике для выявления носительства возбудителей ИППП *Mycoplasma genitalium*. Определение носительства *Mycoplasma genitalium* важно при планировании беременности, исследовании причин бесплодия, исследовании причин воспалительных процессов в урогенитальном тракте.

В случае получения достоверных положительных результатов при использовании данного набора рекомендуется проведение дополнительных исследований для постановки точного диагноза и принятия решения о необходимости лечения.

1.4. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.5. Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» предназначен только для диагностики *in vitro*, для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* в результате специального образования и обучения. Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием (врач КДЛ, врач-бактериолог, биолог, медицинский лабораторный техник, медицинский технолог). Персонал, проводящий исследования с использованием данного МИ, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на соответствующем оборудовании.

1.6. Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» предназначен для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.7. Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» не имеет противопоказаний к применению.

1.8. Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» предназначен для однократного применения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

2.1. Принцип метода

Принцип действия набора «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» основан на методе ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени для выявления специфического участка-мишени ДНК-генома *M. genitalium*.

В процессе амплификации осуществляется наработка фрагмента ДНК *M. genitalium* и фрагмента ДНК Внутреннего контрольного образца (далее ВКО). В состав реакционной смеси входят флуоресцентно-меченные олигонуклеотидные зонды, имеющие участки гибридизации в пределах амплифицируемых фрагментов. В ходе реакции происходит расщепление специфических зондов и накопление флуоресценции, которое детектируется оптической системой амплификатора на соответствующих каналах считывания сигналов в режиме реального времени. После завершения

реакции на основании полученных данных происходит оценка графиков накопления флуоресценции и расчет значений C_d , соответствующих характеристическим точкам графиков, на основании которых интерпретируются результаты.

2.2. Состав и комплектация

Набор «Интифика *Mycoplasma genitalium*» выпускается в двух вариантах исполнения:

- Форма S – ПЦР-смесь-Mg, расфасованная в 14 стрипов по 8 микропробирок и запечатанная слоем парафина, предназначена для амплификаторов планшетного типа совместимых с низкопрофильными ПЦР пробирками;
- Форма T – ПЦР-смесь-Mg, расфасованная в 112 отдельных микропробирок и запечатанная слоем парафина, предназначена для амплификаторов планшетного и роторного типов, в том числе не совместимых с низкопрофильными ПЦР пробирками.

В состав набора входят следующие компоненты (Таблица 1):

Таблица 1

Кат. №	Вариант исполнения	Состав	Количество/объем
459-01	Форма S	1. ПЦР-смесь-Mg 2. ДНК-полимераза (Taq) 3. ПКО - Комплексный положительный контрольный образец 4. ВКО - Внутренний контрольный образец 5. ОКО - Отрицательный контрольный образец	14 стрипов по 8 микропробирок (по 10 мкл) 1 пробирка (1120 мкл) 1 пробирка (250 мкл) 2 пробирки (по 1120 мкл) 1 пробирка (1500 мкл)
459-02	Форма T	1. ПЦР-смесь-Mg 2. ДНК-полимераза (Taq) 3. ПКО - Комплексный положительный контрольный образец 4. ВКО - Внутренний контрольный образец 5. ОКО - Отрицательный контрольный образец	112 отдельных микропробирок (по 10 мкл) 1 пробирка (1120 мкл) 1 пробирка (250 мкл) 2 пробирки (по 1120 мкл) 1 пробирка (1500 мкл)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт и вкладыш. Набор рассчитан на проведение анализа 112 образцов, включая контрольные реакции¹. Все реагенты в составе набора готовы к применению.

¹Контрольные реакции (Отрицательный контроль К- и Положительный контроль К+) должны быть включены в каждое ПЦР-исследование: К- – реакция с Отрицательным контрольным образцом (ОКО) после экстракции НК позволяет оценить наличие контаминации в ПЦР-исследовании и исключить ложноположительные результаты. ОКО входит в состав набора и не содержит специфической НК. К+ – реакция с Комплексным положительным контрольным образцом (ПКО), позволяет оценить правильность прохождения всех этапов ПЦР. ПКО входит в состав набора и содержит смесь искусственно синтезированных последовательностей ДНК со встроенным фрагментом генома, специфичным для *M. genitalium*.

Отрицательный контроль К- – реакция с Отрицательным контрольным образцом (ОКО) после экстракции НК позволяет оценить наличие контаминации в ПЦР-исследовании и исключить ложноположительные результаты. ОКО входит в состав набора и не содержит специфической НК.

Положительный контроль К+ – реакция с Комплексным положительным контрольным образцом (ПКО), позволяет оценить правильность прохождения всех этапов ПЦР. ПКО входит в состав набора и содержит смесь искусственно синтезированных последовательностей ДНК со встроенным фрагментом генома, специфичным для *M. genitalium*.

В состав набора входит Внутренний контрольный образец (ВКО). ВКО добавляется в каждый образец ДНК, начиная с этапа экстракции, с целью контроля процесса амплификации в каждой ПЦР-пробирке. ВКО представляет собой препарат НК, отличающийся от НК искомым микроорганизмом, служит для оценки качества выделения и возможных потерь ДНК, а также для оценки эффективности прохождения реакции амплификации.

Во вкладыше к набору указаны пороговые значения C_q для проб ДНК и контрольных реакций: C_qMg , $C_qПК$ и $C_qВК^2$, что позволяет контролировать эффективность ПЦР анализа, начиная с этапа экстракции ДНК. Допустимые значения пороговых циклов: для $C_qMg \leq 45$, для $C_qПК$ и $C_qВК \leq 30$. Точные значения определяют в ходе аттестации серии набора и указывают во вкладыше к набору для валидированных амплификаторов³.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)⁴ набора при выделении ДНК из мазков/соскобов со слизистых оболочек урогенитального тракта и первой порции мочи составляет 10^3 ГЭ/мл⁵ *M. genitalium* в образце.

3.2. Аналитическая специфичность

Определяется как способность теста обнаруживать только аналит в присутствии интерферирующих НК в исследуемом материале.

Набор «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» обеспечивает отсутствие неспецифических реакций при тестировании образцов ДНК человека, а также следующих микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, HSV 1 и 2 типа, CMV, HPV, *Gardnerella vaginalis*.

²Пороговые значения C_q при амплификации ДНК *M. genitalium*, а также ПКО и ВКО.

³Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 (Модуль реакционный оптический CFX96) (производитель Bio-Rad, США, ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016); Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (производитель ООО «ДНК-Технология», Россия, ФСР 2011/10229 от 03.03.2011); Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q (производитель QIAGEN, Германия, ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010); Анализатор автоматический для проведения ПЦР-анализа в режиме реального времени LightCycler 96 (производитель Roche, Швейцария, РЗН 2014/1614 от 22.07.2019); Амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени (производитель Life Technologies, Сингапур, РЗН 2019/8446 от 06.06.2019).

⁴Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) - минимальная детектируемая концентрация ДНК инфекционного агента в исследуемом образце.

⁵ГЭ – суммарное количество генетического материала в 1 клетке.

Способность набора специфически определять ДНК *M. genitalium* в присутствии ДНК вышеперечисленных микроорганизмов достигнута путем подбора праймеров и зондов к высококонсервативному фрагменту ДНК *M. genitalium*, что исключает перекрестные реакции с близкородственными микроорганизмами и другими инфекционными возбудителями.

Аналитическая специфичность набора подтверждена:

- методом выравнивания последовательности целевого специфического участка с геномами человека, домашних животных, а также близкородственных и других микроорганизмов, составляющих микрофлору ЖКТ и урогенитального тракта человека;
- с использованием Контрольного отрицательного образца специфичности (КОСМг), созданного на основе геномных ДНК вышеперечисленных микроорганизмов в концентрации 10^8 ГЭ/мл (производитель ООО «Компания Алкор Био», Россия).

3.3. Диагностические характеристики

В ходе клинических испытаний Набора реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Интифика *Mycoplasma genitalium*», производства ООО «Компания Алкор Био», Россия, было проведено исследование 1000 клинических образцов, включая:

- 132 образцов отделяемого слизистой оболочки влагалища;
- 307 образцов соскоба эпителия со слизистой оболочки цервикального канала;
- 261 соскобов эпителия со слизистой оболочки уретры;
- 300 образца мочи.

Показатели диагностических характеристик для разных видов клинических образцов, согласно результатам клинических испытаний, соответствуют значениям, приведенным в таблице 2 (доверительная вероятность, в данном исследовании принята равной 95%).

Таблица 2

Вид клинического материала	Результаты испытаний	
	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%)
Соскобы эпителия слизистой оболочки цервикального канала	100% (95% ДИ: 93,56 – 100%)	100% (95% ДИ: 96,62 – 100%)
Отделяемое слизистой оболочки влагалища	100% (95% ДИ: 97,13 – 100%)	100% (95% ДИ: 98,54 – 100%)
Соскобы слизистой оболочки уретры	100% (95% ДИ: 95,28 – 100%)	100% (95% ДИ: 98,51 – 100%)
Моча	100% (95% ДИ: 95,56 – 100%)	100% (95% ДИ: 98,73 – 100%)
Общее кол-во	100% (95% ДИ: 98,92 – 100%)	100% (95% ДИ: 99,59 – 100%)

3.4. Прецизионность измерения

Воспроизводимость результатов измерений с использованием набора «Интифика *Mycoplasma genitalium*» подтверждена на заявленных амплификаторах, разных сериях и вариантах исполнения набора (внутрисерийная, межсерийная и внутривыставочная воспроизводимость). Коэффициент вариации значений S_q для одного и того же образца не превышает 8 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (согласно Приказу Министерства

защиты (Федеральный закон от 06.06.2012).

4.2. Следует рассматривать анализируемые образцы как потенциально инфицированный материал и обеспечивать условия для безопасного хранения и работы.

4.3. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 и МУ 1.3.2569-09.

4.4. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. Все работы должны выполняться только с использованием одноразовых наконечников с аэрозольным барьером для полуавтоматических пипеток. Для каждого образца ДНК (в том числе контролей) использовать отдельный наконечник.

4.6. Постановку ПЦР следует проводить в боксе. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда и др., а также рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

4.7. При работе с ПКО следует соблюдать особую осторожность, так как его разбрызгивание может привести к контаминации и, как следствие, к ложноположительным результатам.

4.8. При удалении отходов не допускать открывания пробирок с продуктами ПЦР и их разбрызгивания, так как это может привести к контаминации рабочих поверхностей и оборудования.

4.9. Перед началом работы ознакомьтесь с пользовательскими инструкциями на все используемое оборудование и комплекты реагентов. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

4.10. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

4.11. Наборы, в которых обнаружена контаминация реагентов, должны быть утилизированы как биологический материал.

4.12. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.

4.13. Все использованные одноразовые материалы, остатки образцов биоматериала, образующиеся в клиничко-диагностических лабораториях, относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы) и должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 287-113.

4.14. Все компоненты набора, в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.15. **ВНИМАНИЕ!** В состав компонентов МИ входит 0,05% азид натрия. Избегайте попадания в глаза и на кожу, опасно при проглатывании. При попадании в глаза – промыть водой, при попадании на кожу – смыть большим количеством воды, при попадании в желудок – прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ПЦР-бокс;
- ламинарный бокс (класс биологической безопасности II тип А) или вытяжной шкаф;
- штативы для пробирок объемом 1,5 и 2 мл;
- штативы для микропробирок объемом 0,1-0,2 мл;
- программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени;
- мини-центрифуга с модулем вортекса со скоростью вращения 2400 об/мин;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым

объемом отбора жидкостей: 0,5 - 10 мкл, 2 - 20 мкл и 20 - 200 мкл, 100 - 1000 мкл, аттестованные по назначению средней дозы и сходимости результатов пипетирования, погрешность не более 3%;

- холодильник;
- дезинфицирующий раствор;
- контейнер для дезинфекции;
- отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.

6. ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

6.1. Материалом для исследования являются препараты нуклеиновых кислот (ДНК), полученные из клинических образцов мазков/соскобов со слизистых оболочек урогенитального тракта (уретры, цервикального канала и влагалища) и образцов первой порции мочи.

6.2. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого биоматериала необходимо осуществлять согласно МУ 1.3.2569-09 и СанПин 3.3686-21 с применением транспортных сред производства ООО «Компания Алкор Био»⁶ согласно инструкциям к наборам для выделения ДНК производства ООО «Компания Алкор Био»⁷.

Допустимо использование зарегистрированных в РФ наборов для экстракции ДНК из соответствующих видов биоматериала и транспортных сред других производителей (рекомендуемые компанией ООО «Компания Алкор Био» к использованию наборы для экстракции ДНК и транспортные среды см. Таблицу 3).

Таблица 3

Набор для выделения ДНК	Транспортные среды
Комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-АМ» по ТУ 9398-036-0189793-2009 (ФСР 2007/00183 от 04.03.2019)	Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» по ТУ 9398-098-01897593-2009 (ФСР2009/05514 от 13.03.2019), Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для мазков» по ТУ 9398-088-01897593-2009 (ФСР 2009/05515 от 10.04.2019)
Комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» по ТУ 9398-158-01897593-2010 (ФСР 2010/07828 от 09.04.2019)	Транспортная среда ТС-ЭДЭМ из Комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом "ЭДЭМ" по ТУ 9398-158-01897593-2010, Форма 1 (ФСР 2010/07828 от 09.04.2019)
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 (ФСР	Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019 (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020),

⁶Реагент для транспортирования и хранения клинических образцов «Транспортная среда с муколитиком» по ТУ 21.20.23-548-98539446-2020 (РЗН 2022/16566 от 22.02.2022).

⁷Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов на основе сорбции на магнитных частицах «Магно-НК-Био» по ТУ 21.20.23-531-98539446-2021 (РЗН 2022/16438 от 27.01.2022), Набор реагентов для выделения ДНК из клинического материала на основе спиртового осаждения ("Экстра-ДНК-Био") по ТУ 9398-244-98539446-2012 (ФСР 2012/13631 от 15.05.2020), Набор реагентов для выделения ДНК из клинического материала на основе термического лизиса «Экспресс-ДНК-Био» по ТУ 9398-252-98539446-2012 (РЗН 2014/1888 от 03.09.2014).

Набор для выделения ДНК	Транспортные среды
2010/08867 от 13.10.2016)	Транспортная среда для биопроб с муколитиком (СТОП-М) по ТУ 21.20.23-102-46482062-2019 (РЗН 2019/9453 от 24.12. 2019)
Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008 (ФСР 2008/02939 от 15.06.2015)	Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008 (ФСР 2008/02939 от 15.06.2015)
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов (РеалБест экстракция 100) по ТУ 9398-464-23548172-2013 (РЗН 2014/1423 от 25.03.2017)	Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор) по ТУ 9398-550-23548172-2016 (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017)
Набор реагентов для выделения ДНК из клинических образцов (РеалБест ДНК-экспресс) по ТУ 9398-412-23548172-2013 (РЗН 2015/2300 от 18.05.2017)	Транспортный раствор из Набор реагентов для выделения ДНК из клинических образцов (РеалБест ДНК-экспресс) по ТУ 9398-412-23548172-2013 (РЗН 2015/2300 от 18.05.2017)

6.3. Взятие биоматериала

Взятие материала необходимо осуществлять стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры.

За 10 дней до взятия материала на исследование пациенту необходимо прекратить прием химиопрепаратов и лечебные процедуры.

Таблица 4

Тип образца	МАЗКИ СО СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
Взятие материала	Мазки берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с транспортной средой и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой. В случае отсутствия насечки, рабочую часть зонда погружают в транспортную среду, и прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращают зонд 5-10 секунд, после чего зонд необходимо удалить, предварительно отжав избыток жидкости о стенки пробирки, а пробирку плотно закрыть. Предварительная обработка проб не требуется.
Особенности взятия материала из уретры	Перед взятием материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 часов. Непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры необходимо обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. У женщин перед введением зонда в уретру проводится ее массаж о лобковое сочленение. У мужчин производят массаж уретры, при наличии свободно стекающих из уретры выделений удаляют их сухим тампоном. Зонд вводится в уретру у женщин на глубину 1,0-1,5 см, у мужчин – на 2 - 4 см и затем делается несколько вращательных движений. У детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.

Тип образца	МАЗКИ СО СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
Особенности взятия материала из цервикального канала	Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводится в цервикальный канал на глубину 0,5 – 1,5 см. При наличии эрозий цервикального канала необходимо их обработать стерильным физиологическим раствором, и материал следует брать на границе здоровой и измененной ткани. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание о стенки влагалища.
Особенности взятия материала из влагалища	Взятие биоматериала производят с помощью зонд-тампона или универсального зонда. Рабочей частью зонд-тампона вращательными движениями проводят по поверхностям боковых стенок влагалища, максимально полно собирая отделяемое.
	Примечание. Перед получением соскоба эпителиальных клеток, свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном. При необходимости взятия биоматериала из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.
Условия хранения	• при температуре +18...+25 °С – в течение 6 часов; • при температуре +2...+8 °С – в течение 24 часов; • при температуре -35...-18 °С – длительно (в течение 1 года). Примечание. В случае длительного хранения рекомендуется аликвотировать образцы порциями по 0,1-0,2 мл в отдельные пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. Допускается только однократное замораживание /оттаивание материала.
Условия транспортирования	В специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом при температуре +2...+8 °С в течение 24 часов.
Тип образца	МОЧА
Взятие материала	Мочу для анализа собирают утром, сразу после сна, либо через два-три часа после последнего мочеиспускания. Необходимо собрать первую порцию мочи. Используют специальный контейнер или флакон для сбора мочи. Минимальный объем мочи, необходимый для проведения анализа, составляет 15-25 мл. Сбор мочи производится после тщательного туалета наружных половых органов. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала, во избежание контаминации с отделяемым из влагалища. Не следует производить сбор мочи во время менструации. Если в лабораторию доставляется лишь часть собранного материала, то перед тем как слить порцию в посуду для транспортирования, весь объем собранной мочи необходимо тщательно взболтать.
Условия хранения	• при температуре +18...+25 °С – в течение 3 часов; • при температуре +2...+8 °С – в течение 24 часов; • при температуре -35...-18 °С – длительно (в течение 1 года). Примечание. В случае длительного хранения рекомендуется аликвотировать образцы порциями по 0,1-0,2 мл в отдельные пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. Допускается только однократное замораживание /оттаивание материала.
Условия транспортирования	В специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом при температуре +2...+8 °С в течение 24 часов.

6.4. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой

Для получения достоверных результатов исследования методом ПЦР большое значение имеет качество выделенной ДНК. Наличие интерферирующих веществ в образцах биологического материала (кровь, слезь, элементы тканевого распада и воспаления, местные лекарственные препараты) может быть причиной ингибирования ПЦР и получения сомнительных результатов.

Оценка влияния интерферирующих веществ на эффективность ПЦР с использованием набора «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» показала отсутствие негативного эффекта при наличии в клинических образцах следующих потенциальных ингибиторов:

Таблица 5

Название	Концентрация / % от объема образца
цельная кровь	30 %
семенная жидкость	30 %
слезь	50 %
метронидазол	0,05 мг/мл
бензалкония хлорид	0,2 мг/мл
лейкоциты	1×10^6 клеток/мл
эстриол	0,003 мг/мл
феназопиридин гидрохлорид	0,05 мг/мл
кислая моча	pH 4,5
щелочная моча	pH 9,0
прогестерон	0,1 мг/мл
доксциклин	0,4 мг/мл
глюкоза	0,1 мг/мл
раствор мирамистина (в максимальной концентрации 0,0002 % в образце)	0,01 %

Несмотря на отсутствие значимого негативного влияния вышеперечисленных потенциально интерферирующих веществ, рекомендуется информировать пациентов о правилах подготовки к ПЦР-исследованию и соблюдать правила взятия биологического материала (см. п.6.3.), а в качестве дополнительной меры для контроля качества выделенной ДНК в каждое исследование включать ВКО.

6.5. Экстракция ДНК из клинических образцов

Предобработку биологического материала следует проводить согласно пользовательской инструкции к соответствующему набору для выделения ДНК.

Экстракцию ДНК из каждого клинического образца рекомендуется проводить в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО), входящего в состав набора.

7. ПОРЯДОК РАБОТЫ

Извлечь набор из холодильника (+2... +8 °C), выдержать все компоненты при комнатной температуре +18... +25 °C (далее КТ) в течение 15 минут.

ДНК-полимеразу (Taq) аккуратно перемешать на вортексе 3-5 секунд, сбросить капли коротким центрифугированием.

7.1. Подготовка проб к амплификации

7.1.1. Отобрать необходимое количество микропробирок ПЦР-смеси-Mg по числу анализируемых образцов и по одной микропробирке для контролей К- (для ОКО) и К+ (для ПКО), промаркировать их и расположить в штативе.

ВНИМАНИЕ! При использовании амплификаторов планшетного типа микропробирки следует маркировать на стенках или на выступающих частях крышки, не заходя на прозрачную область для

тывания флуоресценции. При использовании амплификаторов роторного типа микропробирки ует маркировать на крышке (считывание производится через стенку пробирки).

7.1.2. В каждую микропробирку с ПЦР-смесью-Mg внести по 10 мкл ДНК-полимеразу (Taq), адевая слой парафина.

ВНИМАНИЕ! Необходимо использовать ПЦР-смесь и ДНК-полимеразу (Taq), входящие в гав набора одной серии. Не допускается смешивание разных серий ПЦР-смесей или ДНК-полимераз q).

7.1.3. Внести в соответствующие микропробирки по 10 мкл образцов ДНК, полученных в ультате экстракции из исследуемых образцов.

7.1.4. В микропробирку, маркированную K-, внести 10 мкл Отрицательного контрольного азца (ОКО), полученного в результате экстракции.

Примечание. Опционально, в том числе при выявлении контаминации, к ПЦР-анализу авляется одна дополнительная микропробирка с Отрицательным контролем ПЦР (ПЦР-), :тоящим из 8 мкл Отрицательного контрольного образца (ОКО) и 2 мкл Внутреннего контрольного азца (ВКО).

ВКО следует вносить в каждую микропробирку клинического материала на стадии выделения JK (согласно инструкции).

7.1.5. В микропробирку, маркированную K+, внести 10 мкл Комплексного положительного нтрольного образца (ПКО).

7.1.6. Все микропробирки плотно закрыть, перемешать на вортексе 3-5 секунд, сбросить капли ротким центрифугированием.

7.2. Проведение амплификации

7.2.1. Поместить микропробирки в амплификатор, запрограммировать прибор для выполнения программы амплификации «Интифика» в соответствии с Таблицей 6. Подробную информацию см. в Методических рекомендациях по применению наборов реагентов серии «Интифика» с спользованием различных детектирующих амплификаторов» (<https://forpcr.ru/info/>).

Таблица 6

Цикл	Температура, °C	Измерение флуоресценции	Время*	Количество циклов
1	94	-	3 мин	1
2	94	-	10 с	5
	60	-	20 с	
3	94	-	10 с	45
	60	ROX/ Orange/ Texas Red FAM/ Green	20 с	

7.2.2. Запрограммировать расположение образцов в приборе. Указать каналы детекции FAM и ROX (при одновременном использовании других наборов указывается детекция по другим используемым каналам).

7.2.3. Выставить объем реакционной смеси 30 мкл.

7.2.4. Запустить программу амплификации.

7.2.5. По окончании выполнения программы оценить полученные результаты.

7.3. Интерпретация результатов

7.3.1. Оценка результатов амплификации производится средствами резидентного программного обеспечения используемого амплификатора в соответствии с пользовательской инструкцией к нему и руководствуясь «Методическими рекомендациями по применению наборов реагентов серии «Интифика» с использованием различных детектирующих

идентификация *Mycoplasma genitalium*»

амплификаторов», разработанными ООО «Компания Алкор Био».

Оценка результатов проводится по каждому каналу детекции сигнала флуоресценции.

Для реакции K+ с ПКО определены и указаны во вкладыше к набору пороговые значения CqПК по каналу детекции флуоресценции ROX.

Для внутреннего контроля реакции пороговое значение CqBK по каналу детекции флуоресценции FAM определено и указано во вкладыше к набору.

Для специфических мишеней ДНК *M. genitalium* пороговые значения CqMg по каналам детекции флуоресценции ROX определены и указаны во вкладыше к набору.

7.3.2. Оценка достоверности ПЦР-исследования

Вывод о достоверности ПЦР-исследования делается, исходя из совокупности оценок амплификации по каналам FAM и ROX в реакциях K+ и K-.

Результаты ПЦР-исследования считаются достоверными, если:

CqK+ ≤ CqПК по каналам ROX, ≤ CqBK по каналу FAM;

CqK- / ПЦР- > CqMg по каналу ROX или не определено, ≤ CqBK по каналу FAM.

Если для какого-либо канала определено CqK- / ПЦР- менее граничных значений, то это свидетельствует о наличии контаминации. При выявлении контаминации необходимо предпринять меры по локализации и ликвидации ее источника.

Только в достоверном ПЦР-исследовании можно проводить оценку результатов и делать вывод о наличии или отсутствии ДНК *M. genitalium*.

7.3.3. Оценка результатов ПЦР-исследования

Вывод о наличии ДНК *M. genitalium* в исследуемом образце делается, исходя из совокупности положительных и отрицательных амплификаций в реакции по каждому каналу детекции флуоресценции.

Амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по каналу FAM считается положительной, если выполнены следующие условия:

- Cq образца ≤ CqBK по каналу FAM;

- График амплификации флуоресценции по каналу FAM имеет S-образную форму.

Амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по каналу ROX считается положительной, если выполнены следующие условия:

- Cq образца ≤ CqMg по каналу ROX;

- График амплификации флуоресценции по каналу ROX имеет S-образную форму.

Если хотя бы одно из условий не выполняется, то амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по анализируемому каналу принимается как отрицательная.

7.3.4. Положительный результат ПЦР-исследования

Образец считается положительным, т.е. содержащим ДНК *M. genitalium*, если по каналу ROX определены значения Cq ≤ CqMg, по каналу FAM значение Cq ≤ CqBK.

7.3.5. Отрицательный результат ПЦР-исследования

Образец считается отрицательным, т.е. не содержащим ДНК *M. genitalium*, если по каналу ROX определены значения Cq > CqMg, при этом по каналу FAM определено значение Cq ≤ CqBK.

7.3.6. Недостоверный результат ПЦР-исследования и выявление контаминации

Результат считается недостоверным, если по каналу ROX определены значения Cq > CqMg или значения не определены, при этом выполняется одно из условий:

- по каналу FAM значение Cq > CqBK или не определено;

- в ПКО по каналу ROX определено значение Cq > CqПК или не определено.

При выявлении контаминации (в K- /ПЦР- программа определяет Cq ≤ CqMg по каналу ROX)

необходимо предпринять меры по локализации и ликвидации источника контаминации. При этом, все положительные результаты со значениями $C_q (ROX) \geq (C_qK - (ROX) - 5)$ считаются недостоверными, а все остальные результаты учитываются.

Для всех образцов с недостоверным результатом ПЦР-исследования необходимо повторить анализ, начиная с этапа экстракции ДНК. При повторном получении недостоверного результата, необходимо исследование образца ДНК с использованием другого ПЦР-теста.

В случае повторения недостоверного результата ПЦР-исследования рекомендуется принять меры по организации повторного забора материала.

8. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

8.1. Транспортирование наборов следует производить всеми видами крытого транспорта при температуре не выше +8 °С.

8.2. Транспортирование изделий должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

8.3. Допускается краткосрочное (до 7 суток) транспортирование при температуре не выше +25 °С.

8.4. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.5. Срок годности набора – 12 месяцев от даты производства.

8.6. Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, наборы должны храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности.

8.7. После вскрытия первичной упаковки компоненты набора хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности.

8.8. Наборы с истекшим сроком годности применению не подлежат.

9. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие МИ «Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Интифика *Mycoplasma genitalium*» требованиям ТУ при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими ТУ.

Гарантийный срок хранения набора – 12 месяцев от даты производства.

Набор не подлежит ремонту и обслуживанию.

10. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

10.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

10.2. При утилизации отходов необходимо руководствоваться требованиями СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

10.3. Класс опасности отходов при применении - Б (эпидемиологически опасные). Отходы класса Б собираются в твердую (непрокальваемую) упаковку (контейнеры) желтого цвета или имеющие желтую маркировку с надписью «Отходы. Класс Б». Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию. Выбор метода обеззараживания определяется возможностями

Идентификация *Mycoplasma genitalium*»

организации, осуществляющей исследования с применением данного набора в соответствии с СанПиН 1.3684-21.

10.4. После истечения срока годности пачки и пакеты утилизируются как отходы класса А (эпидемиологически безопасные).

10.5. Компоненты изделия с наличием предупредительных знаков об опасности на упаковке следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности.

10.6. Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются раздавливанием внутренней упаковки с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как бытового мусора. Компоненты изделий, нерастворимые в воде, уничтожаются путем сжигания.

10.7. Азид натрия, входящий в состав компонентов МИ, может реагировать с медными, свинцовыми трубами и образовывать металлические азиды с повышенной взрывоопасностью. При утилизации следует смывать растворы большим количеством воды во избежание накопления азидов.

10.8. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий, должен соблюдать правила безопасности при проведении того или иного способа уничтожения.

11. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества МИ «Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Идентификация *Mycoplasma genitalium*» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный пр., д. 40, лит.А, тел/факс: (812) 677-87-79.

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

Таблица 7

	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Номер по каталогу		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Использовать до
	Изготовитель		Предел температур
	Дата изготовления		Не допускать воздействия солнечного света
	Осторожно!		Беречь от влаги
	Биологический риск		

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-582-98539446-2022.

Прошито, пронумеровано, скреплено печатью

15 (пятинадцать) листов

Генеральный директор

ООО «Компания Алкор Био»

Д.Е. Полинцев

