

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»

М. Е. Сенина



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК *UREAPLASMA PARVUM*,
UREAPLASMA UREALYTICUM, *MYCOPLASMA HOMINIS*, *GARDNERELLA VAGINALIS*,
CANDIDA ALBICANS МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® УРО-5»
ПО ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

Форма выпуска 1

Форма выпуска 2

Шаблон паспорта качества

Лист утверждения

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

№ номер лота/2163-11

АмплиПрайм® УРО-5 Набор реагентов для выявления ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Candida albicans</i> методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® УРО-5» по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023		x
		гггг-мм-дд
		гггг-мм-дд
ФОРМА ВЫПУСКА 1		

Контроль качества проведен по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023.

1. УПАКОВКА И МАРКИРОВКА НАБОРА

Упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-209-09286667-2023.

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ ПОСТАВКИ

Компонент	Характеристика	Норма	Результаты контроля
Набор реагентов «АмплиПрайм® УРО-5»	форма выпуска 1	в наличии	соответствует
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	в наличии	соответствует
Комплект вкладышей к набору	в бумажном виде	в наличии	соответствует
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует

3. СОСТАВ НАБОРА И ВНЕШНИЙ ВИД КОМПОНЕНТОВ

Компонент	Норма	Результаты контроля
ПЦР-смесь УРО-5	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ПЦР-буфер-Н	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ПКО УРО-5	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ОКО	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
К-	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует

4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Показатель	Норма	Результаты контроля
Предел обнаружения		
Выявление ДНК <i>U. parvum</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>U. parvum</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>U. urealyticum</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>U. urealyticum</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>M. hominis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>M. hominis</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>G. vaginalis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 16-23 ДНК GV» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>G. vaginalis</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>C. albicans</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 155-16 ДНК <i>C. albicans</i> » до концентраций $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл и 50 ГЭ/мл.	ДНК <i>C. albicans</i> обнаружена.	соответствует

Результаты тестирования исследуемых образцов и контролей исследования соответствуют критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора.

5. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования	Условия хранения
Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание реагентов. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 3 суток.	Набор хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте. Не допускается замораживание реагентов.

Дата выдачи паспорта XX.XX.XX

Должность

печать подразделения

подпись (расшифровка)

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

№ номер лота/P2163-12

АмплиПрайм® УРО-5 Набор реагентов для выявления ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Candida albicans</i> методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® УРО-5» по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023		x
		гггг-мм-дд
ФОРМА ВЫПУСКА 2		гггг-мм-дд

Контроль качества проведен по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023.

1. УПАКОВКА И МАРКИРОВКА НАБОРА

Упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-209-09286667-2023.

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ ПОСТАВКИ

Компонент	Характеристика	Норма	Результаты контроля
Набор реагентов «АмплиПрайм® УРО-5»	форма выпуска 2	в наличии	соответствует
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	в наличии	соответствует
Комплект вкладышей к набору	в бумажном виде	в наличии	соответствует
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует

3. СОСТАВ НАБОРА И ВНЕШНИЙ ВИД КОМПОНЕНТОВ

Компонент	Норма	Результаты контроля
ПЦР-смесь УРО-5	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок). Прозрачная жидкость, раскупана под парафин белого цвета.	соответствует
ПЦР-буфер-К	1 пробирка. Прозрачная жидкость красного цвета.	соответствует
ПКО УРО-5	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ОКО	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
К-	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует

4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Показатель	Норма	Результаты контроля
Предел обнаружения		
Выявление ДНК <i>U. parvum</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>U. parvum</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>U. urealyticum</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>U. urealyticum</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>M. hominis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП № 119 ПКО ДНК UG-скрин-титр» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>M. hominis</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>G. vaginalis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 16-23 ДНК GV» до концентраций $5,0 \times 10^3$ ГЭ/мл и $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл.	ДНК <i>G. vaginalis</i> обнаружена.	соответствует
Выявление ДНК <i>C. albicans</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 155-16 ДНК <i>C. albicans</i> » до концентраций $5,0 \times 10^2$ ГЭ/мл и 50 ГЭ/мл.	ДНК <i>C. albicans</i> обнаружена.	соответствует

Результаты тестирования исследуемых образцов и контролей исследования соответствуют критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора.

5. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования	Условия хранения
Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание реагентов. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 3 суток.	Набор хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте. Не допускается замораживание реагентов.

Дата выдачи паспорта XX.XX.XX

Должность

печать подразделения

подпись (расшифровка)

Пронумеровано, скреплено и прошито
5 лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Некстбио»

М.Е. Сенина





УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК *UREAPLASMA PARVUM*,
UREAPLASMA UREALYTICUM, *MYCOPLASMA HOMINIS*, *GARDNERELLA VAGINALIS*,
CANDIDA ALBICANS МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® УРО-5»
ПО ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

Форма выпуска 1

Форма выпуска 2

Краткое руководство по применению версии 22.05.23-1

Лист утверждения

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим доступ в интернет). Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени»

«АмплиПрайм® УРО-5»

по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

АмплиПрайм® УРО-5

Форма выпуска 1

REF 2163-11

 ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

IVD

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь УРО-5	Прозрачная жидкость	1,20	1 пробирка
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная жидкость	0,65	1 пробирка
ПКО УРО-5	Прозрачная жидкость	0,26	1 пробирка
ОКО	Прозрачная жидкость	1,10	1 пробирка
К-	Прозрачная жидкость	0,26	1 пробирка

Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	форма выпуска 1
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
2 °С ... 8 °С в защищенном от света месте

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® УРО-5». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции ДНК с помощью рекомендуемых наборов реагентов, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	100 мкл	в каждую пробирку

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

1. Рассчитать объемы реагентов, необходимые для приготовления реакционной смеси, согласно таблице:

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь УРО-5	$10,0 \cdot (N+1)$	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	$5,0 \cdot (N+1)$	

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

ВНИМАНИЕ! В случае приготовления реакционной смеси с помощью автоматической станции следуйте указаниям инструкции по ее использованию.

2. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с ПЦР-смесью УРО-5 и ПЦР-буфером-Н, осадить капли на вихреке.

3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 1. Перемешать смесь и осадить капли на вихреке.

4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для проведения амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов. Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

5. Внести в подготовленные пробирки реакционную смесь и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в пробирки для исследуемых и контрольных образцов
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы ДНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Пробы, экстрагированной из ОКО	в пробирку для образца ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагента К–	в пробирку для образца К– (отрицательного контроля ПЦР)
Реагента ПКО УРО-5	в пробирку для образца ПК (положительного контроля)

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

6. При ручном анализе запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» согласно инструкции по его применению для выполнения следующей программы:

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция 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, R6G ¹ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания:

1) Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

2) В случае, если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК, можно удалить из указанной программы первый шаг (50 °C – 15 мин) для экономии времени.

ВНИМАНИЕ! При использовании программного обеспечения FRT Manager программирование амплификатора устанавливается автоматически.

7. Перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортке.

8. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

9. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

10. Прибор проводит регистрацию флуоресцентного сигнала автоматически в режиме «реального времени».

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

– в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: <https://www.interlabservice.ru/service/frt/>;

– в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

¹ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим доступ в интернет). Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени»
«АмплиПрайм® УРО-5»
по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

АмплиПрайм® УРО-5

Форма выпуска 2

REF P2163-12

 ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

IVD

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь УРО-5	Прозрачная жидкость, раскапана под парафин белого цвета	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок) ¹
ПЦР-буфер-К	Прозрачная жидкость красного цвета	1,20	1 пробирка
ПКО УРО-5	Прозрачная жидкость	0,26	1 пробирка
ОКО	Прозрачная жидкость	1,10	1 пробирка
К-	Прозрачная жидкость	0,26	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	форма выпуска 2
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
2 °С ... 8 °С в защищенном от света месте

¹ Пробирки с голубым парафином не используются.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® УРО-5». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции ДНК с помощью рекомендуемых наборов реагентов, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	100 мкл	в каждую пробирку

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

1. Отобрать необходимое количество стрипованных пробирок с ПЦР-смесью УРО-5 для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

2. Внести в подготовленные пробирки ПЦР-буфер-К и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 10 мкл	
ПЦР-буфер-К	в пробирки с ПЦР-смесью УРО-5 на поверхность парафина ВНИМАНИЕ! ПЦР-буфер-К не должен проваливаться под парафин
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы ДНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Пробы, экстрагированной из ОКО	в пробирку для образца ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагента К-	в пробирку для образца К- (отрицательного контроля ПЦР)
Реагента ПК УРО-5	в пробирку для образца ПК (положительного контроля)

3. При ручном анализе запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» согласно инструкции по его применению для выполнения следующей программы:

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция 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, R6G ² , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания:

1) Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

2) В случае, если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК, можно удалить из указанной программы первый шаг (50 °C – 15 мин) для экономии времени.

² Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

ВНИМАНИЕ! При использовании программного обеспечения FRT Manager программирование амплификатора устанавливается автоматически.

4. Перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
5. Установить стрипы в ячейки реакционного модуля прибора.
6. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
7. Прибор проводит регистрацию флуоресцентного сигнала автоматически в режиме «реального времени».

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

– в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: <https://www.interlabservice.ru/service/frt/>;

– в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

Пронумеровано, скреплено и прошито
7 лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»



М.Е. Сенина



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК *UREAPLASMA PARVUM*,
UREAPLASMA UREALYTICUM, *MYCOPLASMA HOMINIS*, *GARDNERELLA VAGINALIS*,
CANDIDA ALBICANS МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® УРО-5»
ПО ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

Инструкция по применению версии 13.10.23-1

Лист утверждения

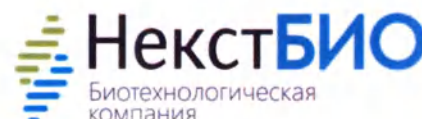
Набор реагентов для выявления ДНК *Ureaplasma parvum*,
Ureaplasma urealyticum, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*,
Candida albicans методом полимеразной цепной реакции с детекцией
в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® УРО-5»
по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023

АмплиПрайм® УРО-5

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ	4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	4
2.1. Формы выпуска, состав и комплектность	4
2.2. Принцип метода	5
2.3. Техническое обслуживание и ремонт	6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	6
3.1. Внутренний контроль качества	6
3.2. Рекомендуемые контрольные материалы	7
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	8
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	8
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	10
6.1. Взятие исследуемого материала	10
6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала	10
6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов	10
6.4. Амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов	11
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	12
7.1. Отделяемое слизистой оболочки влагалища	12
7.2. Соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры	12
7.3. Моча	13
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	14
8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала	14
8.2. Подготовка реагентов для амплификации	14
8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции	15
8.4. Анализ и вычисление результатов	16
8.5. Интерпретация результатов	17
8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению	17
8.7. Диагностическое значение полученного результата	18
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	19
9.1. Предел обнаружения	19
9.2. Аналитическая специфичность	20
9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения	20
9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность	20
9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ	22
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	23
10.1. Срок годности	23
10.2. Транспортирование	23
10.3. Хранение	23
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	24

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ct	– Cycle threshold (пороговый цикл)
ВКО	– внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	– дезоксирибонуклеаза
дНТФ	– дезоксирибонуклеотидтрифосфаты
ПК	– положительный контроль
К-	– отрицательный контроль ПЦР
ОКО	– отрицательный контрольный образец экстракции
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РУ	– регистрационное удостоверение
ТУ	– технические условия
УДГ	– урацил-ДНК-гликозилаза

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для выявления ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® УРО-5» по ТУ 21.20.23-209-09286667-2023.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® УРО-5», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АмплиПрайм® УРО-5» предназначен для выявления ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* в биологическом материале (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), моча) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

1.2. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала с помощью наборов реагентов, рекомендованных в разделе инструкции «Дополнительное оборудование и материалы».

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro* (выявление ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* методом ПЦР в биологическом материале человека).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для скринингового исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на наличие инфекций урогенитального тракта. Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания.

1.5. Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Формы выпуска, состав и комплектность

Набор реагентов выпускается в двух формах (состав набора и комплектность поставки указаны в таблице 1 и 2 соответственно). Все формы выпуска предназначены для проведения амплификации ДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Для проведения полного исследования необходимо использовать наборы реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

Форма выпуска 1 включает смесь для проведения ПЦР в пробирке объемом 1,5 или 2 мл для дозирования в любые типы пробирок. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли. Форма может быть использована как для ручной раскапки, так и совместно с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей.

Форма выпуска 2 включает смесь для проведения ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по стрипованным (12,5 стрипов по 8 пробирок) пробиркам объемом 0,2 мл. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
ПЦР-смесь УРО-5	1,20	1 пробирка	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и ДНТФ. Прозрачная жидкость.
ПЦР-буфер-Н	0,65	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
ПКО УРО-5	0,26	1 пробирка	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 2			
ПЦР-смесь УРО-5	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок) ¹	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и ДНТФ. Прозрачная жидкость, распапана в стрипованные пробирки под парафин белого цвета.
ПЦР-буфер-К	1,20	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость красного цвета.
ПКО УРО-5	0,26	1 пробирка	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (форма выпуска 1 или 2)	-	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде ² на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Комплект вкладышей к набору	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-

2.2. Принцип метода

Принцип тестирования основан на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала и одновременной амплификации участков ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* и *Candida albicans* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится реакция амплификации участка ДНК при помощи специфических к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

¹ Пробирки с голубым парафином не используются.

² Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и трифосфата дезоксиуридина. Фермент УДГ распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих дезоксиуридин, но не ДНК, содержащей дезокситимидин. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда присутствует в ампликонах, поскольку трифосфат дезоксиуридина входит в состав смеси дНТФ в реагентах для амплификации. Дезоксиуридин делает контаминирующие ампликоны восприимчивыми к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

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

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке проводится пять реакций - амплификация участков ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* и *Candida albicans*. Результаты амплификации регистрируются по пяти различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

Таблица 3

Соответствие ДНК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	FAM	R6G ³	ROX	Cy5	Cy5.5
ДНК-мишень	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК <i>G. vaginalis</i>	ДНК <i>C. albicans</i>
Область амплификации	urease complex component gene	urease complex component gene	16S rRNA	Tuf gene	ITS-2

2.3. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать отрицательный контроль экстракции (ОКО). Каждая индивидуальная постановка ПЦР должна включать: отрицательный контроль ПЦР (К-) и положительный контроль (ПКО УРО-5). Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов».

Отрицательный контроль экстракции (ОКО) тестируется, начиная с этапа экстракции, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должны детектироваться участки ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans*. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации, и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружены участки ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans* и контролей, начиная с этапа экстракции.

³ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

Отрицательный контроль ПЦР (К-) тестируется, начиная с этапа амплификации, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем ПЦР не должно детектироваться ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans*. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружена ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans* и контролей, начиная с этапа ПЦР.

В качестве положительного контроля ПЦР используется реагент ПКО УРО-5, входящий в состав набора. В случае несоответствия результата для положительного контроля заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ПЦР.

3.1.2. Контроль ингибирования

Для контроля эффективности экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов ПЦР рекомендуется использовать набор реагентов «АмплиПрайм® УРО-5» совместно с набором/наборами реагентов для амплификации производства ООО «НекстБио», с возможностью одновременной амплификации участка искусственно синтезированной последовательности ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО) и участков ДНК, предназначенных для скринингового исследования биологического материала на наличие инфекций органов репродукции.

Результаты исследования должны соответствовать заданным критериям валидности для исследуемых и контрольных образцов, указанным в инструкции к соответствующим наборам реагентов для амплификации.

3.1.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09. Также для предотвращения контаминации лаборатории или в качестве мер по деконтаминации рабочих зон рекомендуется использовать раствор для дезактивации нуклеиновых кислот, например, «Олигатор» производства ООО «НекстБио», Россия.

3.2. Рекомендуемые контрольные материалы

В качестве контрольных материалов для проверки заявленных функциональных характеристик набора могут быть использованы зарегистрированные на территории Российской Федерации панели контрольных образцов, предназначенные для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению ДНК *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Набор применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для работы только с исследуемым материалом, указанным в разделе «Назначение». Исследование других видов биологического материала может привести к получению недостоверных результатов.

4.3. Получение достоверных результатов обеспечивается выполнением требований, предъявляемых к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала (см. раздел «Исследуемый материал»).

4.4. Набор предназначен для профессионального применения. Набор должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

4.5. При работе с набором следует использовать только амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала, характеристики которых удовлетворяют требованиям, указанным в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

4.6. Применять набор реагентов строго по назначению согласно инструкции по применению.

4.7. Не применять набор при нарушении целостности упаковки и с истекшим сроком годности.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением 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».

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁴, биологический материал⁵, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

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

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества образцов (см. раздел «Формы выпуска, состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор 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.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

5.3. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен. Реагенты набора содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в этом разделе.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

⁴ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

⁵ Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)), содержащая буферно-солевой раствор с муколитиком, консервантом и стабилизатором (например, «Транспортная среда с муколитиком «АмплиПрайм TCM» (ПУ № ФСР 2012/14205) или другая, зарегистрированная в РФ).

6.1.2. Зонд для взятия биологического материала с поверхности слизистых оболочек (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)) однократного применения, стерильный. Рабочая часть зонда может отламываться по имеющейся насечке.

6.1.3. Емкость для взятия, транспортировки и хранения мочи (объемом до 60 мл) однократного применения, стерильная, с закрывающейся или плотно защелкивающейся крышкой, изготовленная из полипропилена.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1.1. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала, содержащая консервант, или физиологический раствор (0,9 % раствор натрия хлорида) стерильный.

6.2.1.2. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.

6.2.1.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.1.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.2.1.5. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.2.1.6. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.2.1.7. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g.

6.2.1.8. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости.

6.2.1.9. Вортекс.

6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов

6.3.1. Набор реагентов для экстракции нуклеиновых кислот, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- набор позволяет выделять ДНК из биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), моча) для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции;

- набор не относится к экспресс-методам экстракции ДНК;
- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 100 мкл;
- набор позволяет проводить элюцию очищенной ДНК в объеме не менее 100 мкл.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошел набор реагентов для экстракции ДНК «МагноПрайм® ФАСТ» (РУ № РЗН 2019/8043).

6.3.2. Дополнительные материалы и оборудование, необходимые для экстракции ДНК, – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции ДНК.

6.4. Амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки, свободные от ДНКаз, следующих видов (при использовании формы выпуска 1):

- завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 - 2 мл – для приготовления реакционной смеси.

- 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 – для проведения ПЦР при использовании прибора планшетного типа;

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – для проведения ПЦР при использовании прибора роторного типа.

6.4.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл.

6.4.3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми пробирками для ПЦР).

6.4.4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс).

6.4.5. Центрифуга-вортекс.

6.4.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.7. Станция автоматическая с модулем для приготовления и раскопки реакционных смесей и комплект расходных материалов к ней согласно инструкции Производителя, - при использовании формы выпуска 1 в случае приготовления реакционной смеси с использованием автоматической станции.

6.4.8. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного либо планшетного типа, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- наличие независимых каналов флуоресцентной детекции для флуорофоров FAM, R6G, ROX, Cy5 и Cy5.5 со следующими характеристиками:

Таблица 4

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	Длины волн, нм			
	Возбуждения		Детекции	
	Минимум	Максимум	Минимум	Максимум
FAM	450	470	510	530
R6G	515	532	545	580
ROX	565	585	605	650
Cy5	620	640	660	690
Cy5.5	660	690	705	750

- для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100 °С;
- точность поддержания температуры $\leq \pm 0,4$ °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошли следующие программируемые амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени»: Rotor-Gene Q (ПУ № ФСЗ 2010/07595), Applied Biosystems QuantStudio 5 (ПУ № РЗН 2019/8446), C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (ПУ № ФСЗ 2008/03399), ДТпрайм (ПУ № ФСР 2011/10229).

6.4.9. Холодильник, поддерживающий температурный режим от 2 до 8 °С.

6.4.10. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.4.11. Емкость для сброса наконечников.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служат:

- соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры);
- моча.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с нижеперечисленными требованиями, несоблюдение которых может привести к получению некорректных результатов исследования.

7.1. Отделяемое слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести из заднебокового свода влагалища с помощью стерильного одноразового зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой в соответствии с инструкцией по применению зонда. Необходимо максимально полно собрать отделяемое. Рабочую поверхность зонда поместить в транспортную среду, обломав пластиковую основу. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови.

ВНИМАНИЕ! Во избежание контаминации, нельзя обрезать зонд ножницами!

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (до 25 °С) – не более 28 суток;
 - при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
- либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.2. Соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры

Взятие эпителиального соскоба из уретры проводить с помощью стерильного одноразового универсального зонда в пробирку с транспортной средой с муколитиком в соответствии с инструкцией по применению зонда. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (до 25 °C) – не более 28 суток;
 - при температуре от 2 до 8 °C – в течение 4 месяцев;
- либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.3. Моча

7.3.1. Порядок сбора

У женщин для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15 – 25 мл в специальную емкость. Сбор мочи провести после тщательного туалета наружных половых органов. 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 освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала, полностью оттянув кожную складку. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15 – 25 мл в специальную емкость.

В случае если сбор мочи осуществляется в емкость без реагентов для консервации и стабилизации, допускается хранение и транспортирование образцов мочи до 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 не выше минус 68 °C – длительно.

При осуществлении сбора мочи в емкость с транспортной средой или реагентами для консервации и стабилизации, хранение образцов мочи до проведения предобработки проводить согласно инструкции к используемой емкости для сбора.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.3.2. Предварительная обработка

Флакон с мочой взболтать. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугировать 5 мин при 10 000 g. При наличии большого количества солей ресуспендировать только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл физиологического раствора стерильного или транспортной среды, и затем снова концентрировать. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удалить супернатант, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавить 200 мкл физиологического раствора стерильного или транспортную среду в объеме, указанном в инструкции по ее применению. Тщательно перемешать содержимое на вортексе.

Допускается хранение предварительно обработанных образцов мочи до проведения исследования:

- 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 не выше минус 68 °C – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории⁶:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность 40 – 75 %.

8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в разделе «Дополнительное оборудование и материалы». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

ВНИМАНИЕ! При проведении исследования недопустимо использование экспресс-методов экстракции ДНК.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой отрицательного контроля (ОКО) в одном повторе.

В процессе экстракции ДНК использовать следующие объемы реагентов и исследуемых образцов:

- объем исследуемого образца – **100 мкл** в пробирки для исследуемых образцов;
- объем реагента ОКО – **100 мкл** в пробирку для ОКО;
- объем реагента, используемого для элюции ДНК, – **100 мкл** (согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК).

8.2. Подготовка реагентов для амплификации

8.2.1. При использовании формы выпуска 1

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

ВНИМАНИЕ! В случае приготовления реакционной смеси с помощью автоматической станции следуйте указаниям инструкции по ее использованию.

8.2.1.1. Рассчитать объемы **ПЦР-смеси УРО-5** и **ПЦР-буфера-Н**, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 5). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 5

Расчет объемов компонентов для одной реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь УРО-5	$10,0 \cdot (N+1)$	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	$5,0 \cdot (N+1)$	

8.2.1.2. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с **ПЦР-смесью УРО-5** и **ПЦР-буфером-Н**, осадить капли на вортексе.

8.2.1.3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.1.1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

⁶ Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

8.2.1.4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов. Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

8.2.1.5. Внести в пробирки по **15 мкл** приготовленной **реакционной смеси**.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.2. При использовании формы выпуска 2

8.2.2.1. Отобрать необходимое количество стрипов с **ПЦР-смесью УРО-5** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

8.2.2.2. Убедиться, что парафин полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.

8.2.2.3. На поверхность парафина внести по **10 мкл ПЦР-буфера-К**, при этом он не должен проваливаться под прослойку парафина и смешиваться с ПЦР-смесью.

8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции

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

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе программирование и запуск амплификатора проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору. При использовании программного обеспечения FRT Manager программирование амплификатора устанавливается автоматически.

8.3.1. Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции.

8.3.2. Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью контрольные образцы:

а) положительный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца **ПК** внести **10 мкл** реагента **ПКО УРО-5**.

б) отрицательный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца **К-** внести **10 мкл** реагента **К-**.

в) отрицательный контроль экстракции – в одну пробирку для образца **ОКО** внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.

8.3.3. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения единой программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. таблицу 6).

Таблица 6

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция 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, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5	

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

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

8.3.5. Установить пробирки или стрипы в ячейки реакционного модуля прибора.

8.3.6. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

8.3.7. Прибор проводит регистрацию флуоресцентного сигнала автоматически в режиме «реального времени».

8.4. Анализ и вычисление результатов

Анализ и обработку результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: <https://www.interlabservice.ru/service/frt/>;

- в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Обработка и расчет результатов происходит на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (Ct) в соответствующей графе таблицы результатов. Параметры обработки флуоресцентных кривых зависят от используемой модели амплификатора (см. вкладыш к набору и инструкцию по применению амплификатора).

Кривые накопления флуоресцентного сигнала анализируются по пяти каналам детекции (см. таблицу 7).

Таблица 7

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5
Продукт амплификации	ДНК <i>U. parvum</i>	ДНК <i>U. urealyticum</i>	ДНК <i>M. hominis</i>	ДНК <i>G. vaginalis</i>	ДНК <i>C. albicans</i>

8.5. Интерпретация результатов

Интерпретацию результатов проводят в двух вариантах:

– вручную в соответствии с таблицей 8 и вкладышем, прилагаемым к набору. Результат исследования считают достоверным, если результаты, полученные для контрольных образцов, соответствуют критериям валидности, указанным в таблице 9;

– в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: <https://www.interlabservice.ru/service/frt/>. Используемые в программном обеспечении алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов и критерии валидности результатов, полученных для контролей, представлены в таблицах 8 и 9 соответственно.

Таблица 8

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Значения Ct по каналам для флуорофоров FAM и/или R6G , и/или ROX , и/или Cy5 , и/или Cy5.5 определены не выше граничного ⁷ . При этом кривые флуоресценции данной пробы по данным каналам пересекают пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.	ДНК <i>U. parvum</i> и/или ДНК <i>U. urealyticum</i> , и/или ДНК <i>M. hominis</i> , и/или ДНК <i>G. vaginalis</i> , и/или ДНК <i>C. albicans</i> обнаружена
Значения Ct по каналам для флуорофоров FAM и/или R6G , и/или ROX , и/или Cy5 , и/или Cy5.5 не определены или определены выше граничного.	ДНК <i>U. parvum</i> и/или ДНК <i>U. urealyticum</i> , и/или ДНК <i>M. hominis</i> , и/или ДНК <i>G. vaginalis</i> , и/или ДНК <i>C. albicans</i> не обнаружена

Таблица 9

Критерии валидности для контрольных образцов

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора				
	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5
ПКО УРО-5 (положительный контрольный образец)	Определено значение Ct не выше граничного ⁷				
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Значение Ct отсутствует				
К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует				

8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению

8.6.1. Для отрицательного контроля экстракции (ОКО) по каналам для флуорофоров FAM и/или R6G, и/или ROX, и/или Cy5, и/или Cy5.5 определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружены ДНК выявляемых микроорганизмов, начиная с этапа экстракции ДНК.

⁷ Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8.6.2. Для отрицательного контроля ПЦР (К-) по каналам для флуорофоров FAM и/или R6G, и/или ROX, и/или Cy5, и/или Cy5.5 определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружены ДНК выявляемых микроорганизмов, начиная с этапа амплификации ДНК.

8.6.3. Для положительного контрольного образца (ПКО УРО-5) значение порогового цикла (Ct) по каналам для флуорофоров FAM и/или R6G, и/или ROX, и/или Cy5, и/или Cy5.5 отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.

8.6.4. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

8.7. Диагностическое значение полученного результата

ПЦР-исследование является одним из методов всестороннего обследования пациента, на основании которых лечащий врач устанавливает диагноз и выбирает мероприятия по лечению пациента. Результаты, полученные при использовании набора, следует рассматривать и интерпретировать в сочетании с данными других клинических и лабораторных исследований.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Предел обнаружения⁸

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® УРО-5» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью (см. таблицу 10).

Значения характеристики, указанные в таблице 10, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 10

Предел обнаружения набора

Микроорганизмы	Биоматериал	Предел обнаружения по Probit 95%, ГЭ/мл	95%-ый доверительный интервал, ГЭ/мл
<i>Ureaplasma parvum</i>	соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	5,0x10 ²	4,08x10 ² – 6,66x10 ²
	моча	5,0x10 ²	4,07x10 ² – 6,43x10 ²
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	5,0x10 ²	4,09x10 ² – 6,30x10 ²
	моча	5,0x10 ²	4,20x10 ² – 6,51x10 ²
<i>Mycoplasma hominis</i>	соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	5,0x10 ²	3,96x10 ² – 5,97x10 ²
	моча	5,0x10 ²	4,35x10 ² – 6,71x10 ²
<i>Gardnerella vaginalis</i>	соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	5,0x10 ²	3,71x10 ² – 6,08x10 ²
	моча	5,0x10 ²	4,04x10 ² – 6,70x10 ²
<i>Candida albicans</i>	соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	50	35 - 75
	моча	50	38 - 73

⁸ Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация ДНК выявляемого возбудителя, при которой 95% тестов дают положительный результат).

9.2. Аналитическая специфичность

Набор «АмплиПрайм® УРО-5» выявляет только фрагменты ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans*.

Аналитическая специфичность набора оценивалась тестированием ДНК микроорганизмов, вирусов (см. таблицу 11) и геномной ДНК человека. ДНК микроорганизмов и вирусов в концентрации не менее 1×10^6 копий/мл и геномную ДНК человека в концентрации 1 мкг/мл вносили в образцы биологического материала, не содержащие ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans*.

Таблица 11

Микроорганизмы и вирусы, используемые для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы и вирусы	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Lactobacillus</i> spp.
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Neisseria sicca</i>	HPV 16 типа
<i>Candida glabrata</i>	HSV I
<i>Candida krusei</i>	HSV II
<i>Candida parapsilosis</i>	CMV
<i>Candida tropicalis</i>	-

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов, вирусов и геномной ДНК человека с использованием набора перекрестных реакций выявлено не было.

9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения

Воспроизводимость и повторяемость результатов с использованием набора оценивали путем тестирования модельных образцов. Модельные образцы были приготовлены путем контаминации образцов биоматериала, предусмотренного назначением набора, стандартными образцами предприятия, содержащими ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *C. albicans*. Были протестированы образцы в двух концентрациях ДНК выявляемых микроорганизмов, одна из которых соответствовала пределу обнаружения набора (5×10^2 ГЭ/мл для ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, и 50 ГЭ/мл для ДНК *C. albicans*), а вторая двукратно превышала предел обнаружения (1×10^3 ГЭ/мл ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, и 1×10^2 ГЭ/мл для ДНК *C. albicans*). Каждый образец проходил все этапы исследования (экстракцию ДНК, амплификацию ДНК и детекцию результатов).

При оценке повторяемости коэффициент вариации, рассчитанный по результатам определения пороговых циклов для ДНК выявляемых микроорганизмов, не превышал 5 %.

При оценке воспроизводимости коэффициент вариации, рассчитанный по результатам определения пороговых циклов для ДНК выявляемых микроорганизмов, не превышал 10 %.

9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность

Для определения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® УРО-5» были использованы образцы каждого вида биоматериала, предусмотренного назначением набора реагентов, в количестве, указанном в таблице 12.

В качестве наборов сравнения, с помощью которых устанавливали наличие/отсутствие в исследуемых образцах ДНК выявляемых микроорганизмов, использовались следующие наборы реагентов: «РеалБест ДНК *Candida albicans* / *Gardnerella vaginalis*» (ПУ № РЗН 2022/16472) для определения наличия или отсутствия ДНК *G. vaginalis* и *C. albicans*, «АмплиСенс® *U. parvum* / *U. urealyticum*-FL» (ПУ № ФСП 2011/10381) для определения наличия или отсутствия ДНК *U. parvum* и *U. urealyticum*, «АмплиСенс® *Mycoplasma hominis*-FL» (ПУ № ФСП 2009/06559) для определения наличия или отсутствия ДНК *M. hominis*.

Таблица 12

**Результаты тестирования образцов биологического материала с помощью набора
«АмплиПрайм® УРО-5»**

Исследуемые образцы			Результаты тестирования					
Тип	Возбудитель	Количество	Образцы	Тестируемый набор «АмплиПрайм® УРО-5»		Набор сравнения «РеалБест ДНК Candida albicans / Gardnerella vaginalis»	Набор сравнения «АмплиСенс® U. parvum / U. urealyticum -FL»	Набор сравнения «АмплиСенс® Mycoplasma hominis-FL»
				Форма выпуска 1	Форма выпуска 2			
соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогениталь ного тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	U. parvum	1000	Положи тельных	171	171	Не выявляет	171	Не выявляет
			Отрицат ельных	829	829	Не выявляет	829	Не выявляет
	U. urealyticum		Положи тельных	174	174	Не выявляет	174	Не выявляет
			Отрицат ельных	826	826	Не выявляет	826	Не выявляет
	M. hominis		Положи тельных	166	166	Не выявляет	Не выявляет	166
			Отрицат ельных	834	834	Не выявляет	Не выявляет	834
	G. vaginalis		Положи тельных	170	170	170	Не выявляет	Не выявляет
			Отрицат ельных	830	830	830	Не выявляет	Не выявляет
	C. albicans		Положи тельных	193	193	193	Не выявляет	Не выявляет
			Отрицат ельных	807	807	807	Не выявляет	Не выявляет
моча	U. parvum	998	Положи тельных	180	180	Не выявляет	180	Не выявляет
			Отрицат ельных	820	820	Не выявляет	820	Не выявляет
	U. urealyticum		Положи тельных	174	174	Не выявляет	174	Не выявляет
			Отрицат ельных	826	826	Не выявляет	826	Не выявляет
	M. hominis		Положи тельных	181	181	Не выявляет	Не выявляет	181
			Отрицат ельных	819	819	Не выявляет	Не выявляет	819
	G. vaginalis		Положи тельных	184	184	184	Не выявляет	Не выявляет
			Отрицат ельных	816	816	816	Не выявляет	Не выявляет
	C. albicans		Положи тельных	194	194	194	Не выявляет	Не выявляет
			Отрицат ельных	806	806	806	Не выявляет	Не выявляет

Значения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® УРО-5» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные, исходя из полученных данных, приведены в таблице 13.

**Диагностические характеристики набора реагентов
«АмплиПрайм® УРО-5»**

Тип образцов	Возбудитель	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	<i>U. parvum</i>	100 % (97,87 % - 100 %)	100 % (99,56 % - 100 %)
	<i>U. urealyticum</i>	100 % (97,90 % - 100 %)	100 % (99,55 % - 100 %)
	<i>M. hominis</i>	100 % (97,80 % - 100 %)	100 % (99,56 % - 100 %)
	<i>G. vaginalis</i>	100 % (97,85 % - 100 %)	100 % (99,56 % - 100 %)
	<i>C. albicans</i>	100 % (98,11 % - 100 %)	100 % (99,54 % - 100 %)
моча	<i>U. parvum</i>	100 % (97,97 % - 100 %)	100 % (99,55 % - 100 %)
	<i>U. urealyticum</i>	100 % (97,90 % - 100 %)	100 % (99,55 % - 100 %)
	<i>M. hominis</i>	100 % (97,98 % - 100 %)	100 % (99,55 % - 100 %)
	<i>G. vaginalis</i>	100 % (98,02 % - 100 %)	100 % (99,55 % - 100 %)
	<i>C. albicans</i>	100 % (98,12 % - 100 %)	100 % (99,54 % - 100 %)

9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® УРО-5» отсутствует. Не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала на этапе экстракции интерферирующих веществ, представленных в таблице 14, в максимально возможной концентрации.

Отсутствие влияния интерферирующих веществ для образцов соскобного материала или отделяемого слизистых оболочек уrogenитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры) (лубриканты (интимный гель-смазка Contex Silk на силиконовой основе, интимный гель-смазка Durex), семенная жидкость, итраконазол, метронидазол, гормоны дигидрогестерон и прогестерон) было показано в испытаниях с использованием набора для экстракции «МагноПрайм® ФАСТ» (РУ № РЗН 2019/8043).

Таблица 14

**Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора
«АмплиПрайм® УРО-5»**

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры)	Гемоглобин	200 мг/мл
	Мочевина	0,33 мМ/мл
	Муцин	2,3 мг/мл
	Хлоргексидин	0,1 %
	Мирамистин	0,001 %
Моча	Гемоглобин	200 мг/мл
	Мочевина	0,33 мМ/мл
	Муцин	2,3 мг/мл

Также не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала ДНК человека в концентрации $1,0 \times 10^8$ копий/мл.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 3 суток.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

10.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Реакционная смесь, приготовленная из ПЦР-смеси УРО-5 и ПЦР-буфера-Н, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество набора «АмплиПрайм® УРО-5» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394, г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

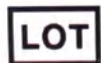
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Изготовитель



Код партии



Дата изготовления



Медицинское изделие для
диагностики *in vitro*



Использовать до



Содержимого достаточно для
проведения n-количества
тестов



Температурный
диапазон



Обратитесь к инструкции по
применению



Не допускать
попадания солнечного
света



Осторожно! Обратитесь к
инструкции по применению

Пронумеровано, скреплено и прошито
25 лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»

М.Е. Сенина

