

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК *MICROSPORUM CANIS* МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО
ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® *MICROSPORUM CANIS*»
ПО ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

Инструкция по применению версии 15.01.24-1

Лист утверждения

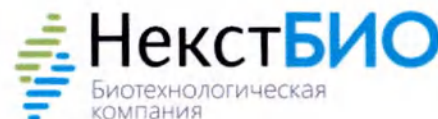
Набор реагентов для выявления ДНК *Microsporum canis* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® *Microsporum canis*» по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

АмплиПрайм® *Microsporum canis*

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. Образцы кожи	12
7.2. Образцы волос	12
7.3. Образцы ногтей.....	13
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	13
8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала.....	13
8.2. Экстракция ДНК из исследуемого материала	14
8.3. Подготовка реагентов для амплификации.....	14
8.4. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции	15
8.5. Анализ и вычисление результатов	16
8.6. Интерпретация результатов.....	16
8.7. Возможные ошибки и рекомендации по их решению	17
8.8. Диагностическое значение полученного результата	18
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	18
9.1. Предел обнаружения	18
9.2. Аналитическая специфичность.....	18
9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения	19
9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность	19
9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ	20
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	20
10.1. Срок годности.....	20
10.2. Транспортирование	21
10.3. Хранение.....	21
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	21
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	22

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ct	– Cycle threshold (пороговый цикл)
ВКО	– внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– 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 *Microsporum canis* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® *Microsporum canis*» по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® *Microsporum canis*», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» предназначен для выявления ДНК грибов, вызывающих микозы (*Microsporium canis*), в биологическом материале (кожа и ее придатки (волосы и ногти)) методом ПЦР с гибридизационно-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 *Microsporium canis* методом ПЦР в биологическом материале человека).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на микозы, вызываемые дерматофитами (*Microsporium canis*), и для мониторинга терапии. 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 гибридизационно-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.

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
ПЦР-смесь <i>Microsporum</i>	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 <i>Microsporum</i>	0,26	1 пробирка	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 2			
ПЦР-смесь <i>Microsporum</i>	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 <i>Microsporum</i>	0,26	1 пробирка	Положительный 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 совместно с внутренним контрольным образцом (ВКО-FL³) и одновременной амплификации участков ДНК выявляемого микроорганизма *Microsporum canis* и искусственно синтезированной последовательности ДНК ВКО с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится реакция амплификации участков ДНК при помощи специфичных к этим участкам 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

¹ Пробирки с голубым парафином не используются.

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

³ ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

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».

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 способствует восприимчивости контаминирующих ампликонов к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

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

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке амплифицируются участки ДНК выявляемых грибов и последовательность ВКО. Результаты амплификации регистрируются по двум различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

Таблица 3

Соответствие ДНК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	R6G ⁴	ROX
ДНК-мишень	ДНК ВКО (экзогенный ВКО)	ДНК <i>Microsporium canis</i>
Область амплификации	искусственно синтезированная последовательность	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 (ОКО⁵). Каждая индивидуальная постановка ПЦР должна включать отрицательный контроль ПЦР (К-) и положительный контроль (ПКО *Microsporium*). Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов».

Отрицательный контрольный образец (ОКО) тестируется, начиная с этапа экстракции, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должна детектироваться ДНК *Microsporium canis*. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными,

⁴ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

⁵ ОКО входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружена ДНК *Microsporum canis*, и контролей, начиная с этапа экстракции.

Отрицательный контроль ПЦР (К-) тестируется, начиная с этапа ПЦР, и позволяет дополнительно контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должны детектироваться ДНК *Microsporum canis* и ВКО. 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 ДНК *Microsporum canis*, и контролей, начиная с этапа ПЦР.

В качестве положительного контроля ПЦР используется реагент ПКО *Microsporum*, входящий в состав набора. В случае несоответствия результатов 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 всех этапов исследования, эффективности экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено использование экзогенного ВКО, который добавляется в каждый исследуемый и отрицательный контрольный образец на этапе экстракции. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности для отрицательных исследуемых образцов, указанным в разделе «Интерпретация результатов». Если в исследуемых образцах, отрицательных на наличие ДНК выявляемого микроорганизма, не обнаружена ДНК ВКО, то результаты исследования данных образцов считаются недостоверными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции.

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 деонтаминации 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 *Microsporum canis*.

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. С помощью набора возможно ПЦР-исследование только проб ДНК, экстрагированных из исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом – ВКО-FL. Без использования ВКО-FL невозможно провести оценку валидности постановки.

4.5. 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).

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

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

4.8. 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, упаковку⁶, биологический материал⁷, 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 клинико-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.

⁶ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

⁷ Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

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

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Стерильный одноразовый скальпель или лезвие для образцов кожи и ее придатков (волос и ногтей). При поражении кожи делают соскоб с границы очага.

6.1.2. Одноразовые или стерильные многоразовые пинцеты и ножницы для взятия биологического материала (образцы кожи и ее придатков (волос и ногтей)). Пинцетом изымают на исследование волосы, помимо чешуек кожи головы, если поражена волосистая часть головы.

6.1.3. Завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки типа «Эппендорф» для хранения и транспортировки биологических образцов, стерильные.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.2.2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 95 °С.

6.2.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200 и до 1000 мкл.

6.2.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 – 2 мл.

6.2.5. Вортекс.

6.2.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

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

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

6.2.9. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

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 (кожа и ее придатки (волосы и ногти)) для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции;
- набор не относится к экспресс-методам экстракции ДНК;
- состав набора включает внутренний контрольный образец;
- состав набора включает отрицательный контрольный образец экстракции;
- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 100 мкл;
- набор позволяет проводить элюцию очищенной ДНК в объеме не менее 150 мкл.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошел набор реагентов для экстракции ДНК «МагноПрайм® ФАСТ-М».

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. Вортекс.

6.4.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.7. Станция автоматическая с модулем для приготовления и раскапки 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 R6G и ROX со следующими характеристиками:

Таблица 4

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	Длины волн, нм			
	Возбуждения		Детекции	
	Минимум	Максимум	Минимум	Максимум
R6G	515	532	545	580
ROX	565	585	605	650

- 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), C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (ПУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (ПУ № РЗН 2019/8446), 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 образцы кожи и ее придатков (волос и ногтей).

Наиболее информативными являются исследования материала, полученного непосредственно из потенциального очага инфекционного процесса. Поскольку инфекционный процесс может захватывать несколько очагов, для получения наиболее исчерпывающей информации пробы материала по возможности рекомендуется брать из нескольких очагов, где имеются признаки воспаления или находятся клетки-мишени для инфекционных агентов. Решение о выборе места взятия исследуемого материала принимает лечащий врач в зависимости от диагностической задачи.

ВНИМАНИЕ! Забор материала не может быть осуществлен в условиях, указанных ниже:

- использовались антимикотические препараты топического применения в течение 48 часов;
- кожа была обработана кремом в течение 24 часов;
- использовалась декоративная косметика в течение 24 часов;
- использовались моющие средства с высоким содержанием щёлочи в течение 24 часов.

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. Образцы кожи

С соблюдением правил асептики материал (мелкие кожные чешуйки и покрывки везикул) собирают стерильным пинцетом или соскабливают скальпелем на границе здоровой и пораженной кожи, так как микроорганизмы выявляются главным образом в периферической части очагов поражения, реже в центре. Образцы кожи помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

7.2. Образцы волос

При поражении волосистой части головы, с помощью стерильного пинцета, фрагменты волос и волосяных фолликулов берут из середины очага поражения, выбирая наиболее поврежденные или обесцвеченные. Если дополнительно обнаруживаются участки поражения на голове, то материал собирают с помощью стерильного скальпеля по правилам сбора образцов с гладкой кожи. Образцы волос помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

7.3. Образцы ногтей

При дистальном поражении ногтевой пластины материал (подногтевой дебрис) получают выскабливанием одноразовым лезвием или скальпелем из-под ногтевого ложа. Дополнительно к подногтевому дебрису в ту же пробирку забирают срез ногтя. При проксимальном поражении ногтя материал получают соскабливающими движениями с поверхности пораженной части ногтевой пластины. Образцы ногтей помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинко-диагностической лаборатории⁸:

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

8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Перед экстракцией необходимо провести предобработку биоматериала.

8.1.1. В каждую пробирку с исследуемыми образцами добавить по **250 мкл Буфера М⁹**. Перемешать и осадить капли на вортексе.

8.1.2. Инкубировать пробирки в течение 10 минут при температуре **95 °С**.

8.1.3. После инкубации тщательно перемешать пробирки и осадить капли на вортексе.

8.1.4. Далее провести экстракцию в соответствии с инструкцией по применению набора, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала и удовлетворяющим требованиям, указанным в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

Примечание: для последующего использования остатки образцов, предобработанных Буфером М, допустимо хранить при следующих условиях:

- при температуре от 2 до 8 °С до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С до года.

⁸ 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».

⁹ Буфер М входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

8.2. 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 реагента ВКО-FL – **10 мкл** в пробирку для ОКО, а также в каждую пробирку с исследуемыми образцами;
- 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, – **150 мкл** (согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК).

8.3. Подготовка реагентов для амплификации

8.3.1. 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.

8.3.1.1. Рассчитать объемы ПЦР-смеси *Microsporum* 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 <i>Microsporum</i>	$10,0 \cdot (N+1)$	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	$5,0 \cdot (N+1)$	

8.3.1.2. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с ПЦР-смесью *Microsporum* и ПЦР-буфером-Н, осадить капли на вортке.

8.3.1.3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.3.1.1. Перемешать смесь и осадить капли на вортке.

8.3.1.4. 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».

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

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.3.2. При использовании формы выпуска 2

8.3.2.1. Отобрать необходимое количество стрипов с ПЦР-смесью *Microsporium* для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

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

8.4. 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.

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

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

а) положительный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца ПК внести 10 мкл реагента ПК *Microsporium*.

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.

8.4.3. 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	R6G, ROX	

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.

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

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

8.4.6. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

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

8.5. 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 двум каналам детекции (см. таблицу 7).

Таблица 7

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	R6G	ROX
Продукт амплификации	ДНК ВКО	ДНК <i>Microsporium canis</i>

8.6. 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.

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Значения Ct по каналам для флуорофоров R6G и ROX не определены или определены выше граничного ¹⁰ .	Невалидный! Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Значение Ct по каналу для флуорофора ROX определено не выше граничного. При этом кривая флуоресценции данной пробы по данному каналу пересекает пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции. Значение Ct по каналу для флуорофора R6G не учитывается.	ДНК <i>Microsporium canis</i> обнаружена
Значение Ct по каналу для флуорофора ROX не определено или определено выше граничного, а по каналу для флуорофора R6G значение Ct определено не выше граничного.	ДНК <i>Microsporium canis</i> не обнаружена

Таблица 9

Критерии валидности для контрольных образцов

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора	
	R6G	ROX
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Определено значение Ct не выше граничного ¹⁰	Значение Ct отсутствует
ПКО <i>Microsporium</i> (положительный контрольный образец)	Определено значение Ct не выше граничного	
К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует	

8.7. Возможные ошибки и рекомендации по их решению

8.7.1. Для отрицательного контроля экстракции (ОКО) по каналу для флуорофора ROX определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов или исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК *Microsporium canis*, начиная с этапа экстракции ДНК.

8.7.2. Для отрицательного контроля ПЦР (К-) по каналам для флуорофоров R6G и/или ROX 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 обнаружена ДНК *Microsporium canis*, начиная с этапа амплификации ДНК.

8.7.3. Для положительного контрольного образца (ПКО *Microsporium*) значение порогового цикла (Ct) по каналам для флуорофоров R6G и/или ROX отсутствует или определено выше граничного. Вероятна ошибка на этапе амплификации, необходимо провести повторно этап ПЦР для всех отрицательных образцов.

8.7.4. 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.

¹⁰ Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8.7.5. В случае получения невалидных результатов требуется повторное исследование образца, начиная с этапа экстракции нуклеиновых кислот. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторно провести взятие, предварительную подготовку и исследование образца.

8.8. 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 обнаружения¹¹

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью и составил 5×10^2 копий/мл (см. таблицу 10).

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

Таблица 10

Предел обнаружения набора

Мишень	Методика экстракции	Биоматериал	Предел обнаружения по Probit 95 %, копий/мл	95 %-ый доверительный интервал, копий/мл
ДНК <i>Microsporium canis</i>	Автоматическая методика экстракции (Microlab STARlet)	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$4,31 \times 10^2 - 6,65 \times 10^2$
		Волосы		$4,01 \times 10^2 - 6,10 \times 10^2$
		Кожа		$4,54 \times 10^2 - 7,07 \times 10^2$
	Автоматическая методика экстракции (Auto-Pure 96)	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$3,86 \times 10^2 - 5,71 \times 10^2$
		Волосы		$4,32 \times 10^2 - 6,93 \times 10^2$
		Кожа		$3,90 \times 10^2 - 5,98 \times 10^2$
	Автоматическая методика экстракции (Nexor 96)	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$4,32 \times 10^2 - 6,93 \times 10^2$
		Волосы		$4,54 \times 10^2 - 7,07 \times 10^2$
		Кожа		$3,86 \times 10^2 - 5,71 \times 10^2$
	Автоматическая методика экстракции (KingFisher Flex)	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$4,01 \times 10^2 - 6,10 \times 10^2$
		Волосы		$4,54 \times 10^2 - 7,07 \times 10^2$
		Кожа		$4,31 \times 10^2 - 6,65 \times 10^2$
	Ручная методика с использованием центрифугирования	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$3,90 \times 10^2 - 5,98 \times 10^2$
		Волосы		$4,01 \times 10^2 - 6,10 \times 10^2$
		Кожа		$3,86 \times 10^2 - 5,71 \times 10^2$
	Ручная методика с использованием магнитного штатива	Ногти	$5,0 \times 10^2$	$3,90 \times 10^2 - 5,98 \times 10^2$
		Волосы		$4,07 \times 10^2 - 6,47 \times 10^2$
		Кожа		$3,91 \times 10^2 - 6,39 \times 10^2$

9.2. Аналитическая специфичность

Набор «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» выявляет только фрагменты ДНК *Microsporium canis*.

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 *Microsporium canis*.

¹¹ Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация ДНК выявляемого возбудителя, при которой 95% тестов дают положительный результат).

Микроорганизмы и вирусы, используемые для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы и вирусы	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes complex</i>
HSV I	<i>Trichophyton tonsurans</i>
HSV II	<i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	<i>Enterobacter cloacae</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 выявляемых микроорганизмов. Были протестированы образцы в двух концентрациях ДНК выявляемых микроорганизмов, одна из которых соответствовала пределу обнаружения набора (5×10^2 копий/мл), а вторая двукратно превышала предел обнаружения (1×10^3 копий/мл). Каждый образец проходил все этапы исследования (предварительную подготовку исследуемого материала, 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® *Microsporum canis*» были использованы образцы каждого вида биоматериала, предусмотренного назначением набора реагентов, в количестве, указанном в таблице 12.

В качестве набора сравнения, с помощью которого устанавливали наличие/отсутствие ДНК *Microsporum canis*, использовался набор реагентов «АмплиПрайм® Дерматофиты (*Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*)» (ПУ № РЗН 2023/19905).

Таблица 12

**Результаты тестирования образцов биологического материала
с помощью набора «АмплиПрайм® *Microsporum canis*»**

Исследуемые образцы		Результаты тестирования		
Тип	Количество	Образцы	Тестируемый набор «АмплиПрайм® <i>Microsporum canis</i> »	Набор сравнения «АмплиПрайм® Дерматофиты (<i>Trichophyton</i> , <i>Epidermophyton</i> , <i>Microsporum</i>)»
Кожа	173	Положительных	50	50
		Отрицательных	123	123
Волосы	164	Положительных	50	50
		Отрицательных	114	114
Ногти	166	Положительных	50	50
		Отрицательных	116	116

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

Таблица 13

Диагностические характеристики набора реагентов «АмплиПрайм® *Microsporium canis*»

Тип образцов	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность
Кожа	100 % (97,05% – 100 %)	100 % (92,89% – 100%)
Волосы	100 % (96,82% – 100 %)	100 % (92,89% – 100%)
Ногти	100 % (96,87% – 100 %)	100 % (92,89% – 100%)

9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» 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 кожи, волос и ногтей (гемоглобин, кетоконазол, тербинафин, клотримазол, аморолфин, циклопирокс, нафтифин) было показано в испытаниях с использованием набора для экстракции «МагноПрайм® ФАСТ-М».

Таблица 14

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «АмплиПрайм® *Microsporium canis*»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Образцы кожи	Гемоглобин	200 мг/мл
	Кетоконазол	20 мкг/мл
	Тербинафин	20 мкг/мл
	Клотримазол	20 мкг/мл
Образцы ногтей	Аморолфин	20 мкг/мл
	Циклопирокс	20 мкг/мл
	Нафтифин	20 мкг/мл
Образцы волос	Кетоконазол	20 мкг/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 *Microsporum* 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® *Microsporum canis*» 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 регулируемую 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, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



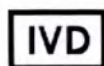
Изготовитель



Номер серии



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
23 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 *MICROSPORUM CANIS* МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО
ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® *MICROSPORUM CANIS*»
ПО ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

Форма выпуска 1

Форма выпуска 2

Краткое руководство по применению версии 28.07.23-1

Лист утверждения

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления ДНК *Microsporium canis* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

АмплиПрайм® *Microsporium canis*

Форма выпуска 1

REF 2166-11

 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 <i>Microsporium</i>	Прозрачная жидкость	1,20	1 пробирка
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная жидкость	0,65	1 пробирка
ПКО <i>Microsporium</i>	Прозрачная жидкость	0,26	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

ВНИМАНИЕ!

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.

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

✓ кожа и ее придатки (волосы и ногти).

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® *Microsporium canis*». 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		
ВКО-FL ¹	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО ²	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	150 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 <i>Microsporium</i>	10,0*(N+1)	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	5,0*(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 *Microsporium* и ПЦР-буфером-Н, осадить капли на вортексе.

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

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 <i>Microsporium</i>	в пробирку для образца ПК (положительного контроля)

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

¹ ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

² ОКО входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

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	R6G ³ , ROX	

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 вортексе.
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.

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

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления ДНК *Microsporium canis* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® *Microsporium canis*» по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

АмплиПрайм® *Microsporium canis*

Форма выпуска 2

REF P2166-12

 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 <i>Microsporium</i>	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 <i>Microsporium</i>	Прозрачная жидкость	0,26	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

ВНИМАНИЕ!

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.

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

✓ кожа и ее придатки (волосы и ногти).

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® *Microsporium canis*». 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		
ВКО-FL ²	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО ³	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	150 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 *Microsporium* 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 <i>Microsporium</i> 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 ПКО <i>Microsporium</i>	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, °С	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	R6G ⁴ , ROX	

Примечания:

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

² ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

³ ОКО входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала.

⁴ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.



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.

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 *MICROSPORUM CANIS* МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО
ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® *MICROSPORUM CANIS*»

ПО ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

Комплект вкладышей

Лист утверждения

ВКЛАДЫШ¹

АмплиПрайм® *Microsporium canis*

Набор реагентов для выявления ДНК *Microsporium canis* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® *Microsporium canis*»
по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

ФОРМА ВЫПУСКА X	REF	X	LOT	X
-----------------	------------	---	------------	---

1. РЕКОМЕНДУЕМЫЕ НАСТРОЙКИ ДЛЯ ПРИБОРОВ РОТОРНОГО ТИПА

Канал	Calibrate/Gain Optimisation.../Опт. уровня сигн.	Threshold/Порог	More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов	Slope Correct/Коррект. уклона	Динамический фон	Исключить циклы
R6G ² /Yellow	от 5 FI до 10 FI	0,07	10 – 15 %	включена	включен	от 1 до 5
ROX/Orange	от 5 FI до 10 FI	0,07	10 – 15 %	включена	включен	от 1 до 5

При запуске прибора в окне «Автооптимизация уровня сигнала» активировать функцию «Выполнить оптимизацию при первом шаге детекции».

2. РЕКОМЕНДУЕМЫЕ НАСТРОЙКИ ДЛЯ ПРИБОРОВ ПЛАНШЕТНОГО ТИПА

2.1. Общие настройки

Канал	Threshold / Порог	Исключить циклы
R6G	Пороговая линия для каждого канала устанавливается на уровне, соответствующем 10 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контрольного образца «ПКО <i>Microsporium</i> » в последнем цикле амплификации.	от 1 до 5
ROX		от 1 до 5

2.2. Настройки для прибора «CFX96»

Параметр	Шаг этапа циклирования	Ramp Rate
Step Options	95 °C	2,5 °C/sec
	60 °C	2,5 °C/sec

Для анализа включить Apply fluorescence drift correction (применение коррекции дрейфа флуоресценции).

2.3. Настройки для приборов «ДТпрайм»

Метод	Тип анализа	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР
Пороговый (Ct)	Ct (Cp) для всех каналов	R6G, ROX	70 %

3. ГРАНИЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ПОРОГОВОГО ЦИКЛА (Ct)

Образец	Канал для флуорофора / мишень	Граничное значение Ct	
		Прибор роторного типа	Прибор планшетного типа
Исследуемые образцы	R6G / BKO-FL	≤ 29,0	≤ 33,0
	ROX / ДНК <i>Microsporium canis</i>	≤ 40,0	≤ 42,0
ОКО	R6G	≤ 29,0	≤ 33,0
ПКО <i>Microsporium</i>	R6G	≤ 34,0	≤ 37,5
	ROX	≤ 37,0	≤ 39,5

¹ Информация, представленная во вкладыше, является переменной и меняется в зависимости от серии набора.

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

ВКЛАДЫШ³

для автоматической обработки результатов к набору

«АмплиПрайм® *Microsporum canis*»

Группа совместимости: X

Кат. №: X

Серия: X

Срок годности до: ГГГГ-ММ-ДД

Методика: X

Группа совместимости: X

Прибор: X

Штрих-код:

Поле для штрих-кода

³ Информация, представленная во вкладыше, является переменной и меняется в зависимости от серии набора.

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

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«МексТБир»



М.Е. Сенина

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК *MICROSPORUM CANIS* МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО
ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® *MICROSPORUM CANIS*»
ПО ТУ 21.20.23-212-09286667-2023

Форма выпуска 1

Форма выпуска 2

Шаблон паспорта качества

Лист утверждения

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

№ номер лота/2166-11

АмплиПрайм® <i>Microsporium canis</i> Набор реагентов для выявления ДНК <i>Microsporium canis</i> методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® <i>Microsporium canis</i> » по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023		x
		гггг-мм-дд
ФОРМА ВЫПУСКА 1		гггг-мм-дд

Контроль качества проведен по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023.

1. УПАКОВКА И МАРКИРОВКА НАБОРА

Упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-212-09286667-2023.

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ ПОСТАВКИ

Компонент	Характеристика	Норма	Результаты контроля
Набор реагентов «АмплиПрайм® <i>Microsporium canis</i> »	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 <i>Microsporium</i>	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ПЦР-буфер-Н	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
ПКО <i>Microsporium</i>	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
К-	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует

4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Показатель	Норма	Результаты контроля
Предел обнаружения		
Выявление ДНК <i>Microsporium canis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 206-22 ДНК <i>M. canis</i> » до концентраций 1×10^4 копий/мл и 5×10^2 копий/мл.	ДНК <i>Microsporium canis</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/P2166-12

АмплиПрайм® <i>Microsporum canis</i> Набор реагентов для выявления ДНК <i>Microsporum canis</i> методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® <i>Microsporum canis</i> » по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023	LOT	x
		гггг-мм-дд
		гггг-мм-дд
ФОРМА ВЫПУСКА 2		

Контроль качества проведен по ТУ 21.20.23-212-09286667-2023.

1. УПАКОВКА И МАРКИРОВКА НАБОРА

Упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-212-09286667-2023.

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ ПОСТАВКИ

Компонент	Характеристика	Норма	Результаты контроля
Набор реагентов «АмплиПрайм® <i>Microsporum canis</i> »	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 <i>Microsporum</i>	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок). Прозрачная жидкость, раскопана под парафин белого цвета.	соответствует
ПЦР-буфер-К	1 пробирка. Прозрачная жидкость красного цвета.	соответствует
ПКО <i>Microsporum</i>	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует
К-	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует

4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Показатель	Норма	Результаты контроля
Предел обнаружения		
Выявление ДНК <i>Microsporum canis</i> при исследовании разведений стандартного образца предприятия «СОП 206-22 ДНК <i>M. canis</i> » до концентраций 1×10^4 копий/мл и 5×10^2 копий/мл.	ДНК <i>Microsporum canis</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
3 лист (а/ов)



Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»

М.Е. Сенина