

Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»



С.А. Самарин
« 13 » февраля 2024 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПО ДНК-Технология»



С.П. Левичев
« 13 » февраля 2024 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae*****методом петлевой изотермической амплификации****(GBS LAMP)**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

GBS, СГВ	- от англ. Group B Streptococcus - стрептококки группы В
LAMP	- от англ. Loop-mediated isothermal amplification - петлевая изотермическая амплификация
RCF	- от англ. relative centrifugal force - относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
ДИ	- доверительный интервал
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ИВ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
РНКазаы	- рибонуклеазы
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

ВВЕДЕНИЕ

Streptococcus agalactiae относится к грамположительным бактериям рода *Streptococcus* spp. группы В (GBS, СГВ), семейства *Streptococcaceae*, порядка *Lactobacillales*.

S. agalactiae распространен повсеместно. Природный резервуар бактерии обширен и включает различные виды млекопитающих, птиц и холоднокровных животных.

GBS колонизируют желудочно-кишечный, урогенитальный тракт, ротовую и носовую полость, однако основным резервуаром считается ЖКТ.

У большей части инфицированных взрослых людей колонизация протекает бессимптомно в виде здорового носительства. Однако *S. agalactiae* вызывает тяжело протекающие заболевания у новорожденных детей и представляет опасность для определенных пациентов других возрастных групп.

GBS обладают множеством различных факторов патогенности, способствующих выживанию бактерий внутри хозяина, а также развитию инфекционных процессов различной локализации [1].

GBS может вызывать такие заболевания, как остеомиелит, некротизирующий фасциит, миозит, сепсис, пневмония, артрит, менингит, эндокардит и инфекции урогенитального тракта, при этом уровень заболеваемости и смертности растет с увеличением возраста, а также при наличии сердечно-сосудистых заболеваний, снижении иммунитета, онкологических заболеваний [2, 3].

Однако особое внимание *S. agalactiae* привлекает к себе в связи с резким подъемом заболеваемости новорожденных детей инфекциями, вызванными этим микроорганизмом. До настоящего времени *S. agalactiae* занимает одно из ведущих мест в структуре возбудителей перинатальных инфекций [2].

В подавляющем большинстве случаев новорожденные инфицируются GBS во время родов от матери, причем чаще это происходит при вагинальном родоразрешении. Риск заболевания доношенного ребенка составляет 1-2%, недоношенного – 15-20%, а при сроке гестации менее 28 недель – практически 100%. GBS вызывает ранние неонатальные инфекции, такие как сепсис, менингит, пневмония, остеомиелит, артрит и пиелонефрит, частота которых в разных странах колеблется от 0,2 до 5 и более на 1000 живорожденных детей [4].

В акушерской практике с GBS связывают бактериемию, инфекции мочевых путей, хориоамнионит, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременные роды, послеродовой эндометрит и др. [4].

Обследование на носительство стрептококка группы В и последующая терапия во время беременности помогает выявить колонизацию *S. agalactiae* родовых путей женщины и уменьшить количество рождения детей с признаками внутриутробной инфекции [5].

Оптимальным решением для ранней диагностики GBS (СГВ)-инфекции является метод петлевой изотермической амплификации (LAMP) в реальном времени, который характеризуется чувствительностью, специфичностью и высокой скоростью получения результатов исследования. [6].

Список литературы

1. Структура острова патогенности XII стрептококков группы В; Е.В. Кулешевич, диссертация на соискание уч. ст. кандидата биологических наук; Санкт-Петербург, 2015.
2. Диагностика и профилактика инфекций, вызванных *Streptococcus agalactiae*, у беременных и новорожденных; С.Л. Зациорская, А.А. Крысанова, В.О. Хван, З.М. Мартикайнен, А.М. Савичева; Педиатр, том V, № 3, 2014.
3. Prevalence and capsular type distribution of group B *Streptococcus* isolated from vagina of pregnant women in Nghe An province, Vietnam; T.Q. Hanh, V.V. Du, P.T. Hien, D.D. Chinh, C.B. Loi, N.M. Dung, D.N. Anh, T.T.K. Anh; Iran J Microbiol. 2020 Feb; 12(1): 11–17.
4. Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных стрептококком группы В у беременных и новорожденных. Клинические рекомендации; А.Р. Мелкумян, Т.В. Припутневич, А.Г. Кочетов, Л.А. Любасовская, А.С. Анкирская, Д.В. Дубоделов, Ю.В. Родченко, В.В. Муравьева, И.С. Тартаковский, А.Н. Цибин, Л.И. Кафарская, Б.А. Ефимов, В.В. Зубков, И.И. Рюмина, Р.Г. Шмаков, С.В. Павлович, Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник, Г.Т. Сухих; Лабораторная служба, 2, 2017.
5. Клинические рекомендации "Нормальная беременность" (утв. Минздравом России). Текст документа приведен в соответствии с публикацией на сайте <http://cr.rosminzdrav.ru/> по состоянию на 13.01.2020.
6. JR Verani, L McGee, SJ. Schrag Prevention of perinatal group B streptococcal disease – revised guidelines from CDC MMWR Recomm Rep 2010, 59 (2010), pp. 1-36.

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- 1.1 **Полное наименование набора реагентов:** Набор реагентов для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae* методом петлевой изотермической амплификации (GBS LAMP), далее по тексту – набор реагентов.
- 1.2 **Назначение:** набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В) в биологическом материале человека (соскоб из урогенитального тракта, мазок ректальный) методом петлевой изотермической амплификации.
- 1.3 **Функциональное назначение:** диагностика *in vitro*.
- 1.4 **Показания к проведению исследования:** экспресс-диагностика СГВ-инфекции у роженицы.
Противопоказаний к применению нет.
- 1.5 **Популяционные и демографические аспекты:** роженицы.
- 1.6 **Область применения:** набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.
- 1.7 **Потенциальные пользователи:** квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории.
- 1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускается в следующих вариантах исполнения:

REF L1-P012-N3/4, фасовка N			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 пробирка	1,3 мл
Bst ДНК полимеразы	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	65 мкл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	80 мкл
Отрицательный контрольный образец ²	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	80 мкл

REF L2-P012-N3/4, фасовка N с пробоподготовкой			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	50 пробирок	по 400 мкл
Нейтрализующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	400 мкл
Смесь для амплификации	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 пробирка	1,3 мл
Bst ДНК полимеразы	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	65 мкл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	80 мкл
Отрицательный контрольный образец ²	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	80 мкл

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

¹ - на этикетке компонента «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов рассчитан на проведение 48 определений (не более 16 постановок), включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Изотермическая амплификация с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный анализ.

Принцип метода основан на использовании амплификации ДНК, катализируемой Bst ДНК полимеразой из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus* при постоянной температуре, заключающейся в отжиге праймеров с комплементарными участками, последующем синтезе ампликонов с вытеснением одной цепи и достройки полинуклеотидных цепей при помощи петлевых праймеров.

В смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется специальными приборами. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов.

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для оценки качества прохождения амплификации. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации специфической ДНК, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Hex. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

В связи с тем, что Bst ДНК полимеразы не являются термостабильным ферментом, в изотермической реакции амплификации не предусмотрена стадия первичной денатурации ДНК (прогрева при температуре, превышающей 63 °C). Для первичной денатурации необходимо прогреть пробирки, содержащие ДНК, согласно инструкции. Отсутствие предварительного прогрева может являться ингибирующим фактором и привести к получению недостоверных результатов.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex/Vic	Rox	Cy5	Cy5.5
ДНК <i>Streptococcus agalactiae</i>	ВК	-	-	-

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка), изотермическая амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов GBS LAMP.

2.4 Время проведения анализа (не включая пробоподготовку): от 30 минут (в зависимости от количества образцов).

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК *S. agalactiae*, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительные результаты амплификации специфического продукта (фрагмента генома *S. agalactiae*) по каналу детекции Fam.

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК *S. agalactiae*, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательные результаты амплификации специфического продукта (фрагмента генома *S. agalactiae*) и положительный результат амплификации внутреннего контроля.

При исследовании аналитической специфичности показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при исследовании в высокой концентрации ДНК близкородственных микроорганизмов или микроорганизмов потенциально присутствующих в неизвестных образцах: *Acinetobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Achromobacter ruhlandii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Burkholderia* spp., *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Chlamydophila pneumonia*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumonia*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Morganella morganii*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus* spp., *Haemophilus influenza*, *Stenotropomonas maltophilia*, *Staphylococcus* spp., *Serratia marcescens*, *Streptococcus pyogenes* (GAS), *Cryptococcus rolland*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Trichomonas vaginalis*, а также ДНК человека в концентрации более 250 нг на реакцию амплификации.

Показано отсутствие конкурентной ингибиции при исследовании образцов, содержащих неспецифическую ДНК в высокой концентрации и ДНК *S. agalactiae* в низкой.

3.2 Интерферирующие вещества и факторы ингибирования изотермической амплификации

Наличие ингибиторов амплификации в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (недостовверных/неопределённых) результатов. Признаком полного ингибирования амплификации является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

К ингибиторам, которые могут присутствовать в образце ДНК, отнесены следующие эндогенные и экзогенные интерферирующие вещества: цельная кровь, гемоглобин, слизь,

хлорид натрия, хелатирующие агенты (такие как соли ЭДТА). Ингибирование выражалось в изменении характера кривых накопления в присутствии цельной крови и гемоглобина. В присутствии других ингибиторов происходил сдвиг кривой с увеличением времени прохождения реакции.

Концентрации интерферирующих веществ, при которых наблюдалось ингибирование амплификации, представлены в таблице ниже.

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце, либо на реакцию
<i>Эндогенные и экзогенные вещества</i>		
Соскобы (мазки) из урогенитального тракта	Слизь	более 20% (в образце)
	Цельная кровь	более 10% (в образце)
	NaCl	более 200 мМ (в образце)
	Гемоглобин	более 70 мкг (в реакции амплификации)
	Na ₂ -ЭДТА	более 0,4 мМ (в реакции амплификации)
Ректальные соскобы (мазки)	Слизь	более 20% (в образце)
	Цельная кровь	более 10% (в образце)
	NaCl	более 200 мМ (в образце)
	Гемоглобин	более 70 мкг (в реакции амплификации)
	Na ₂ -ЭДТА	более 0,4 мМ (в реакции амплификации)

В связи с тем, что Bst ДНК полимеразы не является термостабильным ферментом, в изотермической реакции амплификации не предусмотрена стадия первичной денатурации ДНК (прогрева при температуре, превышающей 63 °С). Для первичной денатурации необходимо прогреть пробирки, содержащие ДНК, согласно данной инструкции. Отсутствие предварительного прогрева может являться ингибирующим фактором и привести к получению недостоверных результатов. Время на постановку реакции (после прогрева образца) не более 15 минут.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения составляет 5 копий ДНК *Streptococcus agalactiae* на амплификационную пробирку, что эквивалентно 1000 копий в 1,0 мл образца. Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений лабораторного контрольного образца (ЛКО).

Биоматериал	Объём полученного препарата, мкл	Предел обнаружения, копий/мл
- Соскоб из уrogenитального тракта; - Мазок ректальный	400	1000

3.4 Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
соскоб из уrogenитального тракта	100% (92,29-100)	100% (92,29-100)
мазок ректальный	100% (88,43-100)	100% (88,43-100)
Весь биоматериал	100% (95,26-100)	100% (95,26-100)

3.5 Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость

Оценка внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости набора реагентов проведена путём сравнения результатов, полученных при исследовании 30 образцов биоматериала.

Внутрисерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 88,43–100%).

Межсерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 88,43–100%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, 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», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории.

Выделение ДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Подготовку к амплификации с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится исследование, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

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

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами амплификации необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами амплификации (МУ 1.3.2569-09).

При использовании набора реагентов в клинично-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм 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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасных компонентов	Указание на риски
Лизирующий раствор	NaOH менее 0,1%	H302, H315, H319
Нейтрализующий раствор	Нет опасных веществ	-
Смесь для амплификации	Азид натрия менее 0,1%	является безопасным для конечного пользователя
Bst ДНК полимеразы	Нет опасных веществ	-
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	является безопасным для конечного пользователя
Отрицательный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	является безопасным для конечного пользователя
Расшифровка обозначений: H302: Вредно при проглатывании; H315: Вызывает раздражение кожи; H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение.		

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

- ПЦР-бокс;
- амплификатор с детекцией в режиме реального времени¹;
- микроцентрифуга-вортекс;
- ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл (только при использовании стрипов);
- холодильник или холодильная камера;
- морозильная камера;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл (только при использовании стрипов);
- дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объём жидкости от 0,5 до 10 мкл, от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 10 мкл; 20 мкл; 200 мкл; 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- пробирки объёмом 0,5 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- пробирки амплификационные объёмом 0,2 мл с крышками /стрипы амплификационные объёмом 0,2 мл и крышки к стрипам, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов.

Для взятия материала для исследования и выделения ДНК:

- бокс биологической безопасности II класса;
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, с RCF(g) не ниже 12000;
- термостат твердотельный с прижимной крышкой, поддерживающий температуру 90 °С;
- электрический лабораторный аспиратор с колбой - «ловушкой»;

¹ -- далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих

- одноразовые наконечники без фильтра для аспиратора, свободные от ДНКа² и РНКаз, объемом 200 мкл;
- холодильник с морозильной камерой;
- микроцентрифуга-вортекс;
- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКа²;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 200 до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от ДНКа² и РНКаз, объемом 20 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- емкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующее средство;
- транспортная среда (рекомендуется лизирующий раствор¹ из Набора реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА ОПТИМА) по ТУ 21.20.23-124-46482062-2021 производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496 или Транспортная среда для биопроб STOP-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019 производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640);
- Набор реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА ОПТИМА)² по ТУ 21.20.23-124-46482062-2021 производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496.

Набор реагентов применяется с детектирующими амплификаторами планшетного и роторного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- обеспечивается работа с объемом реакционной смеси 25 мкл;
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex (Vic);

¹ - при использовании набора реагентов в фасовке N с пробоподготовкой лизирующий раствор входит в состав набора реагентов

- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

В ходе клинических испытаний валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с модулем реакционным оптическим CFX96 (Optical Reaction Module CFX96), Био-Рад Лабораториз, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399;
- Амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.», Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446.

По вопросам применения детектирующих амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют соскоб из уrogenитального тракта, мазок ректальный.

6.2 Общие требования

Исследование методом петлевой изотермической амплификации (LAMP) относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала человека необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании собранного анамнеза и клинической картины заболевания.

Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка.

При необходимости взятия биоматериала из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.

Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

На этапе подготовки биоматериала используйте наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 и СанПиН 3.3686-21.

6.3 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Взятие материала осуществляется сухим зондом! Необходимо **исключить** контакт растворов с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре.

ВНИМАНИЕ!

1. Использование цитощеток противопоказано при беременности.
2. Перед получением соскоба эпителиальных клеток с заднего свода влагалища и цервикального канала свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном.

Ограничение метода:

- при взятии соскобов из урогенитального тракта – местное применение лекарственных препаратов;
- при взятии ректальных соскобов - использование ректальных свечей, слабительных препаратов, медикаментов, содержащих высокий процент железа, колоноскопия менее чем за 48 часов до исследования.

Взятие материала проводится:

- в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (рекомендуется транспортная среда СТОР-Ф);
- в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 400 мкл лизирующего раствора из состава набора реагентов ПРОБА-ОПТИМА в фасовке N, либо в пробирки с лизирующим раствором из состава набора реагентов ПРОБА-ОПТИМА в фасовке S. При использовании набора реагентов GBS LAMP в фасовке N с пробоподготовкой лизирующий раствор входит в состав набора реагентов.

ВНИМАНИЕ! Использование несовместимых транспортных сред может привести к получению некорректных результатов анализа. **Не допускается** использование транспортных сред, содержащих **соли гуанидина** и **соли двухвалентных металлов** (Mg^{2+} , Ca^{2+}), таких как Amies Transport Medium (Amies) и Universal Transport Medium® (UTM™) (COPAN).

После взятия материала перенесите зонд в пробирку с лизирующим раствором или транспортной средой и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания.

Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Условия транспортирования и хранения соскобов определяются инструкцией по применению набора реагентов ПРОБА-ОПТИМА или используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

Для набора реагентов в фасовке N с пробоподготовкой:

При взятии материала в лизирующий раствор образцы допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 18 °C до 25 °C – не более 48 часов;
- при температуре от 2 °C до 8 °C – не более одной недели.

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**7.1 Выделение ДНК из биологического материала**

7.1.1 При использовании набора реагентов GBS LAMP в фасовке N для выделения ДНК следует использовать набор реагентов ПРОБА-ОПТИМА.

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов ПРОБА-ОПТИМА.

Примечание - При экспресс-диагностике допускается проводить выделение ДНК с использованием набора реагентов ПРОБА-ОПТИМА согласно данной инструкции (см. 7.2)

7.1.2 При использовании набора реагентов GBS LAMP в фасовке N с пробоподготовкой набор реагентов ПРОБА-ОПТИМА **не требуется**, необходимые реагенты входят в состав набора реагентов.

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать образец, не содержащий биологический материал, например, лизирующий раствор (Фасовка N, ПРОБА-ОПТИМА) или новую пробирку с лизирующим раствором (Фасовка S, ПРОБА-ОПТИМА). В случае проведения единичных исследований (не более трёх неизвестных образцов) допустимо использовать отрицательный контрольный образец (ОКО), входящий в набор реагентов GBS LAMP, на этапе подготовки амплификации. Дополнительная пробоподготовка отрицательного контрольного образца в этом случае не требуется.

7.2 Выделение ДНК из биологического материала (для набора реагентов в фасовке N с пробоподготовкой)**7.2.1 Общие требования**

7.2.1.1 Используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки. При работе с аспиратором используйте наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз.

7.2.1.2 При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.

7.2.1.3 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить раствор или из которой будете удалять надосадочную жидкость, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.

7.2.1.4 Неизвестные образцы и отрицательный контрольный образец (К-) необходимо

обрабатывать по единой схеме одновременно согласно данной инструкции.

7.2.2 В случае взятия биоматериала в транспортную среду СТОР-Ф:

- 7.2.2.1 Центрифугируйте пробирки с неизвестными образцами в транспортной среде и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 1 минуты.
- 7.2.2.2 Не задевая осадок, максимально полно удалите транспортную среду, оставив в пробирке не более 50 мкл (осадок+жидкая фракция).
- 7.2.2.3 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл лизирующего раствора.
- 7.2.2.4 Выполните 7.2.3.1 – 7.2.3.7

7.2.3 В случае взятия биоматериала в лизирующий раствор:

- 7.2.3.1 Тщательно перемешайте содержимое пробирок с неизвестными образцами и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 10-30 с.
- 7.2.3.2 Осадите капли с крышек пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 10-30 с.
- 7.2.3.3 Инкубируйте пробирки при температуре 90 °С в течение 5 минут.

ВНИМАНИЕ! При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат «Гном» производства ООО «НПО ДНК–Технология»).

Рекомендуется использовать для термостата программу с активным финальным охлаждением пробирок или аккуратно извлечь пробирки из термостата и дать им остыть в вертикальном положении до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С).

- 7.2.3.4 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 1 минуты.
- 7.2.3.5 Перемешайте содержимое пробирки с нейтрализующим раствором на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Осадите капли с крышки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.
- 7.2.3.6 Добавьте в каждую пробирку, не касаясь края пробирки, 8,0 мкл нейтрализующего раствора (исходя из соотношения: 2,0 мкл нейтрализующего раствора на 100 мкл образца).
- 7.2.3.7 Тщательно перемешайте содержимое пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

Полученный препарат ДНК допускается хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более месяца, ниже минус 18°С не более 6 месяцев.

7.3 Подготовка и проведение амплификации

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых амплификационных пробирок/стрипованных пробирок объемом 0,2 мл для неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца (К-/ОКО) и положительного контрольного образца (К+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 16 постановок при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 4 неизвестных образца. Для этого нужно промаркировать 6 пробирок: 4 для неизвестных образцов, одну для «К-» и одну для «К+».

7.3.2 Встряхните пробирки с смесью для амплификации и Bst ДНК полимеразой на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ! Bst ДНК полимеразу необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием

7.3.3 Приготовьте смесь с Bst ДНК полимеразой. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:

- $20 \times (N+1)$ мкл смеси для амплификации;
- $1,0 \times (N+1)$ мкл Bst ДНК полимеразы,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-»/ «ОКО» и «К+».

Пример:

Необходимо проанализировать 4 неизвестных образца. Промаркированных пробирок – 6.

Нужно приготовить смесь с Bst ДНК полимеразой для 7 (6+1) пробирок, т.е. 140 мкл смеси для амплификации + 7,0 мкл Bst ДНК полимеразы.

7.3.4 Встряхните приготовленную смесь с Bst ДНК полимеразой на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ! Смесь с Bst ДНК полимеразой необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.3.5 Внесите во все промаркированные пробирки (включая «К-»/«ОКО» и «К+») по 20 мкл приготовленной смеси. Закройте пробирки/стрипы.

Примечание - Если подготовка к амплификации проводится непосредственно после выделения ДНК, рекомендуемое время на постановку реакции (после прогрева образца) **не более 15 минут.**

Если предполагается проведение амплификации позднее рекомендованного времени, то перед выполнением 7.3.6 термостатируйте пробирки с препаратом ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом при температуре 70 °С в течение 10 мин, затем центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.3.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К-»/«ОКО», «К+», ДНК не вносится.

7.3.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-»/«ОКО», 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

Примечание - Если количество неизвестных образцов в постановке не более 3, допускается использовать отрицательный контрольный образец (ОКО), входящий в состав набора реагентов GBS LAMP.

7.3.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», 5,0 мкл положительного контрольного образца.

7.3.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с.

7.3.10 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.

7.3.11 Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении амплификации загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите амплификацию. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

¹ - тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры ООО ЦИРМИ  INFO@CIRMI.RU  WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU или предоставляется производителем набора реагентов.

7.3.12 Для детектирующих амплификаторов CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5¹:

Проведите амплификацию с учетом объема реакционной смеси, равного 25 мкл, по программам амплификации, приведенным в таблицах 3 и 4 соответственно.

Таблица 2 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений
1	63	0	30	50	√
√- режим оптических измерений					

Таблица 3 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96

№ блока (Step)	Температура, °C	Время (мин:сек)	Количество циклов (повторов)
1	63√	0:30	50
√- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex) при 63°C			

Таблица 4 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5

Стадия	Температура, °C	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
Стадия ПЦР	63√	00:30	50
√- сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex)) включен			

¹ - при использовании детектирующих амплификаторов CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5 тест

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.

9 УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- 9.1 Учёт результатов реакции на детектирующих амплификаторах «ДТпрайм» и «ДТлайт» осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с амплификатором.
- 9.2 При использовании детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.») данные амплификации могут быть получены с использованием различных методов, таких как базовый порог (Ct) или относительный порог (Crt). Результаты амплификации не зависят от выбранного метода и могут учитываться и интерпретироваться с использованием как Ct, так и Crt.
- 9.3 При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad) следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression) и исключить из анализа первые 5 циклов (Analyze Date from Cycle 5 to 50).
- 9.4 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.
- 9.5 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторное проведение исследования с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка амплификации, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).

Таблица 5 – Интерпретация результатов амплификации

Анализ результатов		
Канал детекции		Интерпретация результата
Fam, Cp, Cq, Ct или Crt	Hex/Vic, Cp, Cq, Ct или Crt	
Неизвестные образцы		
Указан	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Streptococcus agalactiae</i>
Не указан	Указан	Не обнаружена ДНК <i>Streptococcus agalactiae</i>
Не указан	> 40	Недостоверный результат
Отрицательный контрольный образец		
Не указан	≤ 40	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец		
Указан	Не учитывается	Положительный результат Результаты постановки валидны

9.6 При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице 5, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В случае наличия значений индикаторных циклов (Cp, Cq, Ct или Crt) по каналу детекции Fam необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации. Систематическое получение значений индикаторных циклов (Cp, Cq, Ct или Crt) по каналу детекции Hex >40 может свидетельствовать о снижении активности Bst ДНК полимеразы.

9.7 При получении для положительного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице 5, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

- 10.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 10.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением Bst ДНК полимеразы, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.3 Допускается транспортирование Bst ДНК полимеразы в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.4 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

- 10.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением Bst ДНК полимеразы, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации следует хранить в защищённом от света месте.
- 10.2.2 Bst ДНК полимеразу следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

- 10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.
- 10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- все компоненты набора реагентов, за исключением Bst ДНК полимеразы, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С

в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации следует хранить в защищённом от света месте;

- Bst ДНК полимеразу следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

- 11.1 При использовании набора реагентов в клинично-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.
- 11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 12.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Температурный диапазон		Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Изготовитель
	Использовать до		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		Осторожно

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем при пользовании документом целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения и EN ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС» (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Ведущий научный сотрудник
ООО «НПФ ДНК-Технология»


Т.А. Левина
«13» февраля 2024 г.

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «НМИЦ АГП
им. В.И. Кулакова» Минздрава России,
академик РАН, профессор


Г.Т. Сухих
«13» февраля 2024 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ А**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»**

- 1) Количество пробирок в тесте – 1;
- 2) Объем реакционной смеси – 25 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений
1	63	0	30	50	√
√- режим оптических измерений					

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
ДНК <i>Streptococcus agalactiae</i>	ВК	-	-	-

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 29

(двадцать девять) листа (ов)

Горюхов Е. А.

Заведующий/секрет
научных и научных исследований
ФГБУ ИАГП и В.И. Кулашова
Минздрава России

Паспорт качества № XXXXX
Набор реагентов для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae*
методом петлевой изотермической амплификации
(GBS LAMP)

Фасовка N

Серия: XXXXXX-XX
Дата изготовления: XXXX-XX-XX
Срок годности: до XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-144-46482062-2023.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Смесь для амплификации	xxx	1 пробирка 1,3 мл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Bst ДНК полимеразы	xxx	1 пробирка 65 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 18 °С до минус 22 °С	Соответствует
Положительный контрольный образец	xxx	1 пробирка 80 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Отрицательный контрольный образец	xxx	1 пробирка 80 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Для лабораторного контрольного образца - положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается	Соответствует
Специфичность	Для положительного контрольного образца - положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается Для отрицательного контрольного образца - отрицательный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (не указано значение Cp) и положительный результат амплификации внутреннего контрольного образца по каналу Hex, значение Cp ≤ 40	Соответствует

Условия транспортирования:

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности или в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри термоконтейнера от 2°С до 25°С не более 5 суток. Допускается транспортирование Bst ДНК полимеразы в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°С не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-144-46482062-2023
Дата выдачи паспорта: XXXX-XX-XX

*Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-144-46482062-2023

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ ТС»
САМАРИН С.А.
подпись



Паспорт качества № XXXXX

Набор реагентов для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae*
методом петлевой изотермической амплификации
(GBS LAMP)

Фасовка N, с пробоподготовкой

Серия: XXXXXX-XX
Дата изготовления: XXXX-XX-XX
Срок годности: до XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-144-46482062-2023.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Лизирующий раствор	xxx	50 пробирок по 400 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Нейтрализующий раствор	xxx	1 пробирка 400 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Смесь для амплификации	xxx	1 пробирка 1,3 мл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Bst ДНК полимеразы	xxx	1 пробирка 65 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 18 °С до минус 22 °С	Соответствует
Положительный контрольный образец	xxx	1 пробирка 80 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Отрицательный контрольный образец	xxx	1 пробирка 80 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Для лабораторного контрольного образца - положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается	Соответствует
Специфичность	Для положительного контрольного образца - положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается	Соответствует
	Для отрицательного контрольного образца - отрицательный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (не указано значение Cp) и положительный результат амплификации внутреннего контрольного образца по каналу Hex, значение Cp<40	
Эффективность выделения нуклеиновых кислот	Для положительного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку - положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается	Соответствует
	Для отрицательного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку - отрицательный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (не указано значение Cp) и положительный результат амплификации внутреннего контрольного образца по каналу Hex, значение Cp<40.	

Условия транспортирования:

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности или в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри термоконтейнера от 2°С до 25 °С не более 5 суток.

Допускается транспортирование Bst ДНК полимеразы в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°С не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-144-46482062-2023

Дата выдачи паспорта: xxxx-xx-xx

*Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-144-46482062-2023

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ДНК-Технология ТС»
САМАРИН С.А.
подпись



«ДНК-Технология ТС»
LLC

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Лабораторный контрольный образец
для набора реагентов для выявления ДНК *Streptococcus agalactiae*
методом петлевой изотермической амплификации
(GBS LAMP)

Серия: К3107
Дата изготовления: 2023-07-31
Срок годности: до 2024-07-31
Условия хранения: от 2 °С до 8 °С

Результат контроля ОТК

Концентрация ДНК, копий/мл	10 ³
Характеристика и норма	Положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывается
Фактические значения	Зафиксирован положительный результат амплификации фрагмента генома <i>Streptococcus agalactiae</i> по каналу детекции Fam (указано значение Cp). Сигнал по каналу детекции Hex не учитывался.
Результат	Соответствует

Заключение: соответствует требованиям регламента № 76
Дата выдачи паспорта: 2023-07-31



КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ДНК-Технология ТС»
САМАРИН С.А. ДНК-Технология ТС»
ПОДПИСЬ

