

«УТВЕРЖДАЮ»

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



В.Г. Акимкин

«20»

июня

20 24 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для количественного определения ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики in vitro

«АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»

АмплиСенс®



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

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	6
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	15
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	16
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	18
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	18
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	21
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....	24
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	25
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	26
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	27
ФОРМА 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN.....	28
СОСТАВ	28
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	28
А. Подготовка проб для амплификации	29
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» ..	30
В. Анализ и интерпретация результатов.....	31
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	36
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	37
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	38

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО Glob	- эндогенный внутренний контрольный образец (участок β -глобинового гена человека)
ВПЧ ВКР	- вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИППП	- инфекции, передаваемые половым путем
K1, K2	- ДНК-калибраторы
K+	- положительный контроль ПЦР
K-	- отрицательный контроль ПЦР
МУ	- методические указания
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РУ	- регистрационное удостоверение
РШМ	- рак шейки матки
СанПин	- санитарные правила и нормы
УДГ	- урацил-ДНК-гликозилаза
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)
FL	- ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL» предназначен для количественного определения ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов в биологическом материале (отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Набор реагентов позволяет определять суммарное количество ДНК ВПЧ всех 14 типов, и, кроме того, отдельно определять ДНК ВПЧ 16, 18 и 45 типов.

Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

Показания и противопоказания к применению набора реагентов

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

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного в ходе скрининговых исследований или от лиц с подозрением на папилломавирусную инфекцию вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

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

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала и одновременной амплификации участков ДНК выявляемых типов ВПЧ ВКР и ДНК β -глобинового гена человека с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. ДНК β -глобинового гена используется в качестве эндогенного внутреннего контроля (ВКО Glob) и позволяет не только контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца, но и оценивать адекватность взятия материала и его хранения. ВКО Glob, являясь участком генома человека, должен всегда присутствовать в исследуемом образце в достаточном количестве, эквивалентном количеству клеток человека в образце ($500 - 10^5$ клеток/реакцию).

Амплификация участка ДНК проводится при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, комплементарные участкам амплифицируемых ДНК-мишеней, что позволяет регистрировать накопление специфического продукта

амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Количественное определение ДНК ВПЧ ВКР основывается на существовании линейной зависимости между логарифмом исходной концентрации ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговый цикл, Cycle threshold, Ct). Для проведения количественного теста амплификацию ДНК из исследуемых образцов проводят одновременно с образцами с известной концентрацией ДНК-мишеней – ДНК-калибраторами, которые аттестованы по методике Изготовителя. По результатам амплификации ДНК-калибраторов строится калибровочная прямая и проводится расчет концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах. Концентрация рассчитывается как соотношение количества копий ДНК ВПЧ на количество клеток эпителия слизистых оболочек человека.

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

Результаты амплификации регистрируются по каналам флуоресцентной детекции, указанным в табл. 1:

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
ДНК-мишень	ДНК ВПЧ ВКР тип 16	ДНК ВПЧ ВКР тип 18	ДНК ВПЧ ВКР типы 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68	ДНК участка β-глобинового гена (ВКО Glob)	ДНК ВПЧ ВКР тип 45
Область амплификации	E6 gene	E6 gene	E1 gene (для типов 16,31,33,35,52, 58) E2 gene (для типов 18,39,45,56,59,66,68) E7 gene (для типа 51)	β-глобиновый ген	E6 gene

ВПЧ 16, 18 и 45 типов в совокупности являются причиной 75 % плоскоклеточных раков и 94 % аденокарцином шейки матки. При этом развитие РШМ часто ассоциировано с интеграцией ДНК ВПЧ в геном клетки-хозяина, в результате

которой происходит разрыв участка E1/E2 при сохранении онкогена E6/E7.

Поскольку набор реагентов позволяет детектировать разные участки генома ВПЧ 16, 18 и 45 типов по разным каналам флуоресцентной детекции (E6 – по каналам для флуорофоров FAM, JOE, Cy5.5, и E1/E2 – по каналу для флуорофора ROX), выявление области E6 при отсутствии области E1/E2 позволяет косвенно судить о возможности интеграции вируса в геном человека.

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Форма 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN

Форма 1 рассчитана на 110 реакций амплификации, включая контроли, и используется для проведения амплификации ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и позволяет проводить анализ в количественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Диапазон измерения и предел обнаружения

Таблица 2

Вид исследуемого материала	Транспортная среда	Комплект для экстракции ДНК	Предел обнаружения, копий/мл ¹	Диапазон измерения, копий/мл
Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс))	«Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)», среда для транспортировки образцов «Digene»	«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО», «ДНК-сорб-АМ»	5x10 ³	7x10 ³ – 1x10 ⁸
	Транспортно-фиксирующая спиртосодержащая среда для жидкостной цитологии	«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО», «АмплиСенс® ДНК-сорб-Д»		

¹ Количество копий ДНК вируса в биологическом материале, помещенном в указанную транспортную среду, в пересчете на 1 мл.

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

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает участки ДНК ВПЧ ВКР заявленных типов.

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК следующих микроорганизмов/штаммов:

- штаммы из коллекции ATCC® (American Type Culture Collection, США): *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49926™; *Gardnerella vaginalis* ATCC® 14018™; *Streptococcus agalactiae* ATCC® 13813™; *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615™ в концентрации не менее 1×10^5 копий/мл;
- клинические образцы (видовая принадлежность возбудителей определена с помощью метода прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей): *Atopobium vaginae*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus humanbeta5*, *Lymphocryptovirus humangamma4*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Simplexvirus humanalpha1*, *Simplexvirus humanalpha2*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Varicellovirus humanalpha3* в концентрации не менее 1×10^5 копий/мл;
- клинические образцы (видовая принадлежность возбудителей определена с помощью метода прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей): *Human papillomavirus*, относящийся к типам низкого, возможно высокого канцерогенного риска (возможно ВКР, possibly high carcinogenic) и неопределенного риска, в частности типы 6, 11, 42, 44, 62, 67, 70, 72, 73, 81, 82, 84 в концентрации не менее 1×10^5 копий/мл;
- ДНК человека в концентрации 1 мг/мл.

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов и ДНК человека неспецифических реакций, а также перекрестных реакций между типами ВПЧ не выявлено. Специфичность тестирования подтверждалась методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей.

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

Повторяемость, воспроизводимость

Повторяемость и воспроизводимость исследования определены путем тестирования положительных модельных образцов. Положительные модельные образцы представляли собой разведения стандартных образцов предприятия, содержащих ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов, до конечных концентраций 1×10^4 и 1×10^7 копий/мл в образцах отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)), в которых ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов предварительно не выявлена (см. табл. 3, 4).

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

Таблица 3

Повторяемость

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, lg копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, lg	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
«ДНК-сорб-АМ»	ВПЧ 16 типа	7,00	10	7,13	0,11	1,56
		4,00	10	4,06	0,16	4,00
	ВПЧ 18 типа	7,00	10	7,09	0,11	1,50
		4,00	10	3,99	0,02	0,44
	ВПЧ 31 типа	7,00	10	7,11	0,10	1,44
		4,00	10	4,02	0,03	0,66
	ВПЧ 33 типа	7,00	10	7,11	0,12	1,73
		4,00	10	4,00	0,03	0,66
	ВПЧ 35 типа	7,00	10	7,12	0,09	1,30
		4,00	10	4,00	0,03	0,73
	ВПЧ 39 типа	7,00	10	7,14	0,09	1,28
		4,00	10	4,17	0,06	1,50

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, Ig копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
	ВПЧ 45 типа	7,00	10	7,08	0,10	1,38
		4,00	10	4,17	0,08	1,95
	ВПЧ 51 типа	7,00	10	7,13	0,09	1,33
		4,00	10	4,16	0,06	1,51
	ВПЧ 52 типа	7,00	10	7,12	0,11	1,51
		4,00	10	4,16	0,07	1,74
	ВПЧ 56 типа	7,00	10	7,14	0,08	1,17
		4,00	10	4,00	0,03	0,69
	ВПЧ 58 типа	7,00	10	7,08	0,12	1,68
		4,00	10	4,20	0,07	1,75
	ВПЧ 59 типа	7,00	10	7,16	0,10	1,37
		4,00	10	4,01	0,03	0,69
	ВПЧ 66 типа	7,00	10	7,20	0,06	0,84
		4,00	10	4,11	0,07	1,72
	ВПЧ 68 типа	7,00	10	7,15	0,13	1,75
		4,00	10	4,16	0,08	1,93
«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	ВПЧ 16 типа	7,00	10	7,14	0,12	1,67
		4,00	10	4,06	0,13	3,24
	ВПЧ 18 типа	7,00	10	7,08	0,11	1,51
		4,00	10	4,01	0,02	0,58
	ВПЧ 31 типа	7,00	10	7,12	0,12	1,69
		4,00	10	4,01	0,02	0,43
	ВПЧ 33 типа	7,00	10	7,12	0,07	1,01
		4,00	10	4,00	0,03	0,64
	ВПЧ 35 типа	7,00	10	7,15	0,09	1,21
		4,00	10	3,99	0,03	0,71
	ВПЧ 39 типа	7,00	10	7,12	0,11	1,49
		4,00	10	4,16	0,05	1,16
	ВПЧ 45 типа	7,00	10	7,16	0,10	1,34
		4,00	10	4,16	0,06	1,37
	ВПЧ 51 типа	7,00	10	7,14	0,08	1,08
		4,00	10	4,19	0,07	1,62
	ВПЧ 52 типа	7,00	10	7,11	0,13	1,81
		4,00	10	4,19	0,06	1,52
	ВПЧ 56 типа	7,00	10	7,07	0,08	1,15
		4,00	10	4,00	0,02	0,54
	ВПЧ 58 типа	7,00	10	7,14	0,11	1,60
		4,00	10	4,16	0,05	1,31
	ВПЧ 59 типа	7,00	10	7,19	0,07	1,03
		4,00	10	4,02	0,02	0,41
	ВПЧ 66 типа	7,00	10	7,17	0,10	1,41
		4,00	10	4,18	0,05	1,25
	ВПЧ 68 типа	7,00	10	7,15	0,07	0,97
		4,00	10	4,19	0,07	1,60

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, Ig копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
«АмплиСенс® ДНК-сорб-Д»	ВПЧ 16 типа	7,00	10	7,10	0,10	1,40
		4,00	10	4,08	0,15	3,73
	ВПЧ 18 типа	7,00	10	7,19	0,08	1,17
		4,00	10	4,01	0,03	0,65
	ВПЧ 31 типа	7,00	10	7,07	0,12	1,70
		4,00	10	4,01	0,03	0,64
	ВПЧ 33 типа	7,00	10	7,06	0,08	1,10
		4,00	10	3,99	0,02	0,58
	ВПЧ 35 типа	7,00	10	7,12	0,11	1,51
		4,00	10	4,01	0,02	0,45
	ВПЧ 39 типа	7,00	10	7,13	0,12	1,64
		4,00	10	4,15	0,06	1,45
	ВПЧ 45 типа	7,00	10	7,14	0,10	1,40
		4,00	10	4,15	0,10	2,39
	ВПЧ 51 типа	7,00	10	7,07	0,12	1,75
		4,00	10	4,18	0,08	1,96
	ВПЧ 52 типа	7,00	10	7,10	0,13	1,83
		4,00	10	4,18	0,08	1,94
	ВПЧ 56 типа	7,00	10	7,15	0,10	1,39
		4,00	10	3,99	0,02	0,53
	ВПЧ 58 типа	7,00	10	7,08	0,12	1,67
		4,00	10	4,16	0,08	1,82
	ВПЧ 59 типа	7,00	10	7,13	0,09	1,30
		4,00	10	4,01	0,02	0,57
	ВПЧ 66 типа	7,00	10	7,13	0,11	1,55
		4,00	10	4,17	0,07	1,74
	ВПЧ 68 типа	7,00	10	7,13	0,13	1,80
		4,00	10	4,18	0,07	1,71

Таблица 4

Воспроизводимость

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, Ig копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
«ДНК-сорб-АМ»	ВПЧ 16 типа	7,00	40	7,11	0,21	2,99
		4,00	40	4,02	0,16	3,90
	ВПЧ 18 типа	7,00	40	7,09	0,21	2,89
		4,00	40	4,00	0,05	1,23
	ВПЧ 31 типа	7,00	40	7,10	0,20	2,81
		4,00	40	4,01	0,05	1,21
	ВПЧ 33 типа	7,00	40	7,13	0,22	3,15
		4,00	40	4,01	0,05	1,19
	ВПЧ 35 типа	7,00	40	7,12	0,20	2,78
		4,00	40	4,00	0,06	1,38
	ВПЧ 39 типа	7,00	40	7,08	0,21	3,00
		4,00	40	4,16	0,12	2,89
	ВПЧ 45 типа	7,00	40	7,13	0,16	2,27
		4,00	40	4,17	0,15	3,52
	ВПЧ 51 типа	7,00	40	7,14	0,21	3,01
		4,00	40	4,17	0,14	3,43
	ВПЧ 52 типа	7,00	40	7,14	0,21	2,87
		4,00	40	4,18	0,12	2,96
	ВПЧ 56 типа	7,00	40	7,12	0,21	2,99
		4,00	40	4,04	0,12	2,88
	ВПЧ 58 типа	7,00	40	7,10	0,21	2,92
		4,00	40	4,09	0,17	4,16
	ВПЧ 59 типа	7,00	40	7,11	0,20	2,80
		4,00	40	4,00	0,06	1,41
	ВПЧ 66 типа	7,00	40	7,16	0,20	2,77
		4,00	40	4,15	0,15	3,54
	ВПЧ 68 типа	7,00	40	7,13	0,21	2,99
		4,00	40	4,17	0,15	3,53
«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	ВПЧ 16 типа	7,00	40	7,12	0,22	3,15
		4,00	40	4,02	0,13	3,27
	ВПЧ 18 типа	7,00	40	7,12	0,22	3,04
		4,00	40	4,01	0,05	1,25
	ВПЧ 31 типа	7,00	40	7,12	0,23	3,18
		4,00	40	4,01	0,04	0,95
	ВПЧ 33 типа	7,00	40	7,13	0,20	2,77
		4,00	40	4,00	0,05	1,30
	ВПЧ 35 типа	7,00	40	7,14	0,20	2,75
		4,00	40	4,00	0,05	1,26
	ВПЧ 39 типа	7,00	40	7,15	0,19	2,69
		4,00	40	4,17	0,12	2,90
	ВПЧ 45 типа	7,00	40	7,12	0,22	3,11
		4,00	40	4,00	0,04	1,12

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, lg копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, lg	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
	ВПЧ 51 типа	7,00	40	7,12	0,19	2,63
		4,00	40	4,17	0,14	3,39
	ВПЧ 52 типа	7,00	40	7,12	0,24	3,38
		4,00	40	4,17	0,12	2,95
	ВПЧ 56 типа	7,00	40	7,11	0,22	3,07
		4,00	40	4,04	0,13	3,16
	ВПЧ 58 типа	7,00	40	7,12	0,21	2,91
		4,00	40	4,10	0,16	4,00
	ВПЧ 59 типа	7,00	40	7,13	0,22	3,04
		4,00	40	4,00	0,05	1,23
	ВПЧ 66 типа	7,00	40	7,14	0,21	2,95
		4,00	40	4,15	0,12	2,98
	ВПЧ 68 типа	7,00	40	7,12	0,21	3,00
		4,00	40	4,18	0,14	3,24
«АмплиСенс® ДНК-сорб-Д»	ВПЧ 16 типа	7,00	40	7,11	0,20	2,85
		4,00	40	4,02	0,15	3,80
	ВПЧ 18 типа	7,00	40	7,09	0,20	2,77
		4,00	40	4,00	0,05	1,33
	ВПЧ 31 типа	7,00	40	7,13	0,20	2,83
		4,00	40	4,01	0,05	1,17
	ВПЧ 33 типа	7,00	40	7,11	0,20	2,75
		4,00	40	4,00	0,05	1,34
	ВПЧ 35 типа	7,00	40	7,11	0,23	3,27
		4,00	40	4,00	0,05	1,19
	ВПЧ 39 типа	7,00	40	7,03	0,22	3,08
		4,00	40	4,16	0,13	3,12
	ВПЧ 45 типа	7,00	40	7,13	0,19	2,73
		4,00	40	4,00	0,05	1,16
	ВПЧ 51 типа	7,00	40	7,10	0,22	3,12
		4,00	40	4,18	0,13	3,20
	ВПЧ 52 типа	7,00	40	7,12	0,21	2,92
		4,00	40	4,17	0,13	3,21
	ВПЧ 56 типа	7,00	40	7,15	0,21	2,96
		4,00	40	4,05	0,16	3,85
	ВПЧ 58 типа	7,00	40	7,11	0,21	2,90
		4,00	40	4,08	0,16	3,82
	ВПЧ 59 типа	7,00	40	7,13	0,19	2,72
		4,00	40	4,00	0,05	1,28
	ВПЧ 66 типа	7,00	40	7,12	0,22	3,09
		4,00	40	4,17	0,13	3,07
	ВПЧ 68 типа	7,00	40	7,12	0,22	3,03
		4,00	40	4,19	0,13	3,20

Правильность

Правильность исследования определена путем тестирования положительных модельных образцов. Положительные модельные образцы представляли собой разведения стандартных образцов предприятия, содержащих ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов, до конечной концентрации 1×10^4 и 1×10^7 копий/мл в образцах отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)), в которых предварительно ДНК ВПЧ заявленных типов не выявлена (см. табл. 5).

Таблица 5

Правильность

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, lg копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, lg	Систематическая погрешность (В), %
«ДНК-сорб-АМ»	ВПЧ 16 типа	7,00	30	7,11	1,57
		4,00	30	4,02	0,62
	ВПЧ 18 типа	7,00	30	7,09	1,24
		4,00	30	4,00	-0,02
	ВПЧ 31 типа	7,00	30	7,10	1,50
		4,00	30	4,01	0,30
	ВПЧ 33 типа	7,00	30	7,13	1,81
		4,00	30	4,01	0,22
	ВПЧ 35 типа	7,00	30	7,13	1,80
		4,00	30	4,00	0,12
	ВПЧ 39 типа	7,00	30	7,12	1,74
		4,00	30	4,17	4,19
	ВПЧ 45 типа	7,00	30	7,12	1,70
		4,00	30	4,17	4,24
	ВПЧ 51 типа	7,00	30	7,14	2,04
		4,00	30	4,17	4,23
	ВПЧ 52 типа	7,00	30	7,13	1,85
		4,00	30	4,18	4,58
	ВПЧ 56 типа	7,00	30	7,12	1,76
		4,00	30	4,00	0,00
	ВПЧ 58 типа	7,00	30	7,10	1,43
		4,00	30	4,13	3,16
	ВПЧ 59 типа	7,00	30	7,11	1,57
		4,00	30	4,00	0,06
	ВПЧ 66 типа	7,00	30	7,15	2,15
		4,00	30	4,14	3,42

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, Ig копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Систематическая погрешность (В), %
	ВПЧ 68 типа	7,00	30	7,11	1,59
		4,00	30	4,17	4,30
«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	ВПЧ 16 типа	7,00	30	7,12	1,75
		4,00	30	4,02	0,58
	ВПЧ 18 типа	7,00	30	7,12	1,68
		4,00	30	4,01	0,21
	ВПЧ 31 типа	7,00	30	7,11	1,60
		4,00	30	4,01	0,37
	ВПЧ 33 типа	7,00	30	7,13	1,90
		4,00	30	4,00	-0,04
	ВПЧ 35 типа	7,00	30	7,14	1,94
		4,00	30	4,00	-0,06
	ВПЧ 39 типа	7,00	30	7,11	1,63
		4,00	30	4,17	4,25
	ВПЧ 45 типа	7,00	30	7,12	1,69
		4,00	30	4,17	4,29
	ВПЧ 51 типа	7,00	30	7,12	1,68
		4,00	30	4,17	4,35
	ВПЧ 52 типа	7,00	30	7,13	1,83
		4,00	30	4,16	4,04
	ВПЧ 56 типа	7,00	30	7,11	1,59
		4,00	30	4,00	0,08
	ВПЧ 58 типа	7,00	30	7,13	1,80
		4,00	30	4,12	3,06
	ВПЧ 59 типа	7,00	30	7,13	1,91
		4,00	30	4,00	0,01
	ВПЧ 66 типа	7,00	30	7,15	2,13
		4,00	30	4,16	4,08
	ВПЧ 68 типа	7,00	30	7,14	1,93
		4,00	30	4,19	4,64
«АмплиСенс® ДНК-сорб-Д»	ВПЧ 16 типа	7,00	30	7,11	1,51
		4,00	30	4,03	0,73
	ВПЧ 18 типа	7,00	30	7,09	1,26
		4,00	30	3,99	-0,18
	ВПЧ 31 типа	7,00	30	7,11	1,53
		4,00	30	4,01	0,30
	ВПЧ 33 типа	7,00	30	7,11	1,51
		4,00	30	3,99	-0,14
	ВПЧ 35 типа	7,00	30	7,12	1,69
		4,00	30	4,00	0,08
	ВПЧ 39 типа	7,00	30	7,11	1,55
		4,00	30	4,15	3,87
	ВПЧ 45 типа	7,00	30	7,13	1,86
		4,00	30	4,16	4,07
	ВПЧ 51 типа	7,00	30	7,11	1,53
		4,00	30	4,19	4,71

Комплект для экстракции	Выявляемый патоген	Ожидаемое значение концентрации, Ig копий/мл	Количество повторов	Среднее значение измерения концентрации, Ig	Систематическая погрешность (В), %
	ВПЧ 52 типа	7,00	30	7,13	1,84
		4,00	30	4,18	4,43
	ВПЧ 56 типа	7,00	30	7,13	1,88
		4,00	30	4,00	-0,12
	ВПЧ 58 типа	7,00	30	7,11	1,62
		4,00	30	4,11	2,63
	ВПЧ 59 типа	7,00	30	7,13	1,80
		4,00	30	4,00	0,07
	ВПЧ 66 типа	7,00	30	7,11	1,61
		4,00	30	4,16	4,06
	ВПЧ 68 типа	7,00	30	7,12	1,70
		4,00	30	4,19	4,76

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для определения диагностических характеристик набора использованы 14100 образцов отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)) женщин в возрасте от 18 до 65 лет с отсутствием или наличием цервикальной интраэпителиальной неоплазии различной степени тяжести, РШМ, установленным на основании результатов патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала. В основную группу включено 9100 образцов биологического материала, содержащих ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов, в группу сравнения – 5000 образцов биологического материала, не содержащих ДНК заявленных типов.

В качестве референтного метода использовался набор реагентов на основе ПЦР для количественного определения ДНК ВПЧ ВКР заявленных типов, зарегистрированный в Российской Федерации в установленном порядке.

Результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6

**Диагностические характеристики набора реагентов
«АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»**

Вид исследуемого материала	Микроорганизм	Диагностическая чувствительность ² (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность ³ (с доверительной вероятностью 95 %)
Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища)	ВПЧ 16 типа	100 (98,87-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 18 типа	100 (98,78-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 31 типа	100 (98,83-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 33 типа	100 (98,90-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 35 типа	100 (98,77-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 39 типа	100 (98,86-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 45 типа	100 (98,82-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 51 типа	100 (98,89-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 52 типа	100 (98,79-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 56 типа	100 (98,84-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 58 типа	100 (98,88-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 59 типа	100 (98,87-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 66 типа	100 (98,80-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
	ВПЧ 68 типа	100 (98,85-100,00)%	100 (99,86-100,00)%
Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс))	ВПЧ 16 типа	100 (98,92-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 18 типа	100 (98,93-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 31 типа	100 (98,89-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 33 типа	100 (98,85-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 35 типа	100 (98,92-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 39 типа	100 (98,87-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 45 типа	100 (98,91-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 51 типа	100 (98,89-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 52 типа	100 (98,96-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 56 типа	100 (98,88-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 58 типа	100 (98,90-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 59 типа	100 (98,84-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 66 типа	100 (98,93-100,00)%	100 (99,85-100,00)%
	ВПЧ 68 типа	100 (98,90-100,00)%	100 (99,85-100,00)%

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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-

² Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

³ Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

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 МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

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

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

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

необходимости обратиться за медицинской помощью.

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

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

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку⁴, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

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

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Транспортная среда для транспортирования и хранения биологического материала, содержащая консервант (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (РУ № ФСР 2009/05514)), транспортно-фиксирующая спиртосодержащая среда для жидкостной цитологии (например, PreservCyt, Hologic Inc. («Холоджик Инк.») США (РУ № ФСЗ 2012/11752)).

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

2. Набор для взятия цервикальных проб DNAPAP Cervical Sampler из набора реагентов Digene HPV test (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (РУ № ФСЗ 2010/06595)).
3. Щетка эндоцервикальная.
4. Зонд гинекологический комбинированный.
5. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 5,0 мл.

Предварительная подготовка исследуемого материала

6. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5; 2 мл.
7. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл.
9. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл; 2 мл.
10. Бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
11. Центрифуга-вортекс.
12. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g.
13. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.
14. Автоматические дозаторы переменного объема.
15. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
16. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
17. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

18. Комплект реагентов для экстракции ДНК (в зависимости от вида исследуемого материала, см. раздел инструкции «Проведение ПЦР-исследования», подраздел «Экстракция ДНК из исследуемых образцов») – «ДНК-сорб-АМ» (РУ № ФСР 2007/00183), «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» (РУ № РЗН 2016/3920), «АмплиСенс® ДНК-сорб-Д» (РУ № РЗН 2015/3503).
19. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.

Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

20. Одноразовые полипропиленовые пробирки:

- а) завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл – для приготовления реакционной смеси;
- б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – при использовании прибора планшетного типа;
- в) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – при использовании прибора роторного типа.

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

22. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл.

23. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс, УФ-бокс) или бокс микробиологической безопасности II класса защиты.

24. Центрифуга-вортекс.

25. Автоматические дозаторы переменного объема.

26. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595)), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США (РУ № ФСЗ 2008/03399)), ДТ-96/«ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2007/01250, РУ № ФСР 2011/10229))).

27. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.

28. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.

29. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА⁵

Материалом для исследования служат образцы отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта:

- мазок со слизистой оболочки влагалища;
- соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс).

Мазок со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала производить с помощью зонда-тампона или зонда гинекологического комбинированного в одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки с 0,5 мл «Транспортной среды с муколитиком (ТСМ)» из заднебокового свода влагалища. Рабочей частью зонда вращательным движением провести по поверхности боковых стенок влагалища, максимально полно собирая отделяемое. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови. Перенести зонд в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда, содержащую исследуемый материал, обломить и оставить в пробирке с транспортной средой. Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки. В случае невозможности обламывания погрузить рабочую часть зонда в транспортную среду и, прижав ее к внутренней стороне пробирки, вращать 5–10 с, после чего зонд удалить, пробирку плотно закрыть.

Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!

ВНИМАНИЕ! В случае использования «Транспортной среды с муколитиком (ТСМ)» цвет жидкости может измениться при кислом pH отделяемого.

Допускается хранение образцов исследуемого материала до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 18 до 25 °С – в течение 28 сут;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 мес;
- при температуре от минус 20 °С и ниже – длительно.

⁵ См. также «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации» / Домонова Э.А., Творогова М.Г., Подколзин А.Т. [и др.]. Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. 112 с. ISBN 978-5-6045286-6-2, DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-6-2>, веб-сайт <https://prepcr.crie.ru/>

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)

Доступ к цервикальному каналу обеспечить с помощью одноразового или многоразового стерильного гинекологического зеркала. Перед получением материала слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки удалить стерильным марлевым тампоном (допустимо минимальное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови). Взятие материала провести с помощью эндоцервикальной щетки (цитощетки) или зонда гинекологического комбинированного (допускается использование при обследовании беременных, молодых нерожавших женщин).

Способы взятия соскобов эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс):

Первый способ – используется цитощетка (одна или две) и пробирка с 0,5 мл «Транспортной среды с муколитиком (ТСМ)». Соскоб эпителия цервикального канала (эндоцервикс), взятый одной цитощеткой, и/или соскоб эпителия с поверхности шейки матки (эктоцервикс), взятый второй цитощеткой, поместить в пробирку с транспортной средой.

Второй способ – используется набор для взятия цервикальных проб – DNAPAP Cervical Sampler (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), содержащий цитощетку и пробирку со средой для транспортировки образцов «Digene». Соскоб эпителия цервикального канала (эндоцервикс) поместить в пробирку со средой для транспортировки образцов.

Третий способ – используется комбинированный гинекологический зонд для одновременного взятия эпителия из эндо- и эктоцервикса и пробирка объемом 5 мл с 2 мл «Транспортной среды с муколитиком (ТСМ)». Соскоб эпителия цервикального канала (эндоцервикс и эктоцервикс) поместить в пробирку с транспортной средой.

Четвертый способ – используется комбинированный гинекологический зонд для одновременного взятия эпителия из

эндо- и эктоцервикса и виала с транспортно-фиксирующей средой для жидкостной цитологии. Соскоб эпителия цервикального канала (эндоцервикс и эктоцервикс) поместить в виалу с транспортной средой.

Рабочую часть цитощетки/зонда, содержащую исследуемый материал, обломить и оставить в пробирке или виале с транспортной средой. Пробирку, виалу плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки. В случае невозможности обламывания погрузить рабочую часть цитощетки/зонда в транспортную среду и, прижав ее к внутренней стороне пробирки, виалы, вращать 5-10 с, после чего цитощетку/зонд удалить. Пробирку, виалу плотно закрыть крышкой.

Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!

Допускается хранение образцов исследуемого материала, взятых в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)», до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 18 до 25 °С – в течение 28 сут;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 мес;
- при температуре от минус 20 °С и ниже – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Допускается хранение образцов исследуемого материала, взятых в среду для транспортировки образцов «Digene», до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре минус 20 °С – в течение 3 лет.

Допускается трехкратное замораживание-оттаивание материала.

Допускается хранение образцов исследуемого материала, взятых в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии, до проведения предварительной подготовки:

- при температуре от 18 до 25 °С – в течение 28 сут;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 6 мес.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Образцы мазков со слизистой оболочки влагалища и соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятые в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)» или среду для транспортировки образцов «Digene», не требуют предварительной подготовки.

Образцы соскобов, взятые в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии, требуют предварительной подготовки (концентрирование эпителиальных клеток).

Соскоб эпителиальных клеток со слизистых оболочек цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятый в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии

ВНИМАНИЕ! Отбирать аликвоту клеток для исследования методом ПЦР необходимо только одноразовыми наконечниками с фильтром и только в одноразовые стерильные пробирки. Важно, чтобы первой отбиралась аликвота клеток для ПЦР-исследования, второй – для проведения жидкостной цитологии.

Концентрирование эпителиальных клеток

Способ первый

Виалу с образцом для жидкостной цитологии интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток и оставить при температуре 18–25 °С на 30 мин для оседания клеток. Затем 1 мл осадка перенести в пробирку объемом 1,5 мл, используя наконечник с фильтром. Центрифугировать 5 мин при 12 тыс g (например, 13,4 тыс об/мин для лабораторной микроцентрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation). Не захватывая осадок, удалить супернатант, используя наконечник без фильтра и отсасыватель медицинский, оставить 100 мкл надосадочной жидкости и осадок. Полученную пробу после тщательного перемешивания на вортексе и осаждения капель со стенок пробирки использовать для экстракции ДНК, начиная с этапа отмывки концентрированных эпителиальных клеток.

Способ второй

Виалу с образцом для жидкостной цитологии интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток. 1–2 мл клеточной взвеси перенести в пробирку объёмом 2 мл, используя наконечник с фильтром. Центрифугировать 5 мин при 12 тыс g (например, 13,4 тыс об/мин для лабораторной микроцентрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation). Не захватывая осадок, удалить супернатант, используя наконечник без фильтра и отсасыватель медицинский, оставить 100 мкл надосадочной жидкости и осадок. Полученную пробу после тщательного перемешивания на вортексе и осаждения капель со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием в течение 3–5 с использовать для экстракции ДНК, начиная с этапа отмывки концентрированных эпителиальных клеток.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ограничения по использованию проб

Пригодными для исследования являются образцы, содержащие не более 20 % потенциально интерферирующих веществ.

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции выбраны эндогенные и/или экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале, используемом для исследования (см. табл. 7).

Протестированы модельные образцы отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс) без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Концентрация каждого потенциально интерферирующего вещества указана в табл. 7. Модельные образцы содержали стандартные образцы предприятия ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов с концентрацией каждой из мишеней 5×10^3 копий/мл, равной их пределу обнаружения.

Таблица 7

Вид исследуемого материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
Отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс))	Эндогенные вещества	Слизь	20%	Не обнаружено
		Цельная кровь	20%	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Сперма	20%	Не обнаружено
		Нистатин	20%	Не обнаружено
		Лубрикант	20%	Не обнаружено
		Мирамистин	20%	Не обнаружено

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых образцов,
- амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Комплекты реагентов для экстракции ДНК из разных видов исследуемого материала, объемы исследуемого образца, отрицательного контроля экстракции (ОК) и объем элюции указаны в табл. 8. В качестве ОК используется реагент ОКО.

Таблица 8

Вид исследуемого материала	Транспортная среда	Комплект для экстракции ДНК	Объем исследуемого образца, мкл	Объем отрицательного контроля экстракции (ОК), мкл	Объем элюции, мкл
Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазок со слизистой оболочки влагалища)	«Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)»	«ДНК-сорб-АМ»	100	100	100
		«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	100	100	100
Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)	«Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)», среда для транспортировки образцов «Digene»	«ДНК-сорб-АМ»	100	100	100
		«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	100	100	100
	Транспортно-фиксирующая среда для жидкостной цитологии	«АмплиСенс® ДНК-сорб-Д»	1000*	100	100
		«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»	1000*	100	100

* Объем и порядок подготовки исследуемого материала см. в данной инструкции, а также в инструкции к комплекту реагентов для экстракции.

Порядок работы с комплектами реагентов «ДНК-сорб-АМ», «АмплиСенс® ДНК-сорб-Д» и «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» смотрите в инструкции к соответствующему комплекту для экстракции.

ВНИМАНИЕ! Добавление внутреннего контрольного образца не требуется.

ФОРМА 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN

СОСТАВ

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN – комплект реагентов для амплификации участков ДНК ВПЧ ВКР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество пробирок, шт
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета	1,2	1
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1
К1 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1
К2 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1
К–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1

Электронный калькулятор на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» – на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

Эксплуатационная документация в составе: инструкция по применению, паспорт качества набора реагентов, вкладыш к набору реагентов, краткое руководство к набору реагентов – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

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

А. Подготовка проб для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси-FL ВПЧ 14** и **5 мкл ПЦР-буфера-Н**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в пункте 7) плюс запас на несколько реакций.

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

2. Разморозить пробирку с **ПЦР-смесью-FL ВПЧ 14**. Перемешать содержимое пробирок с **ПЦР-смесью-FL ВПЧ 14**, **ПЦР-буфером-Н**, осадить капли на вортексе.
3. В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь. Смешать необходимое количество **ПЦР-смеси-FL ВПЧ 14** и **ПЦР-буфера-Н**, осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
5. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл** проб ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

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

7. Поставить контрольные реакции:
 - а) **ДНК-калибратор К1** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К1 ВПЧ скрин**.
 - б) **ДНК-калибратор К2** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К2 ВПЧ скрин**.
 - в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию также необходима постановка отрицательного контроля ПЦР (К–). Для этого в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К–**.

Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется:
 - а) перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе;
 - б) в случае неполной загрузки приборов планшетного типа дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.
2. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» и запустить выполнение программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 9, 10)⁶.

Таблица 9

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс» для приборов роторного⁷ и планшетного⁸ типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	

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

⁶ Программы амплификации (табл. 9, 10) равнозначны в использовании для данного набора реагентов.

⁷ Например, Rotor-Gene 6000 (Corbett Research), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH).

⁸ Например, CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.), ДТ-96/«ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Таблица 10

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс-1»

Цикл	Приборы роторного типа ⁷			Приборы планшетного типа ⁸		
	Температура, °C	Время	Количество циклов	Температура, °C	Время	Количество циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	5 с	5	95	5 с	5
	60	20 с		60	20 с	
	72	15 с		72	15 с	
3	95	5 с	40	95	5 с	40
	60	20 с детекция флуоресц. сигнала		60	30 с детекция флуоресц. сигнала	
	72	15 с		72	15 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров **FAM, JOE, ROX, Cy5 и Cy5.5**.

ВНИМАНИЕ! Программа «АмплиСенс-1» (см. табл. 10) является **универсальной** для проведения тестов с помощью комплектов реагентов «АмплиСенс» для выявления и типирования ВПЧ ВКР и выявления ДНК возбудителей ИППП. Поэтому можно одновременно в одном приборе проводить все эти тесты или любое их сочетание.

В. Анализ и интерпретация результатов

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации, по пяти каналам:

Таблица 11

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
Продукт амплификации	ДНК ВПЧ ВКР 16 типа	ДНК ВПЧ ВКР 18 типа	ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов	ДНК ВКО Glob	ДНК ВПЧ ВКР 45 типа

Анализ и интерпретацию полученных результатов проводят с помощью ПО прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», используя приведенный ниже алгоритм или электронный калькулятор на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14».

ВНИМАНИЕ! Работа электронного калькулятора «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» осуществляется при использовании программы Microsoft® Excel, входящей в состав приложений Microsoft® Office. Для начала работы необходимо скопировать файл электронного калькулятора с сайта Изготовителя на жесткий диск персонального компьютера. Порядок работы с электронным калькулятором, а также его назначение и характеристики описаны во вкладке «Инструкция» электронного калькулятора «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14».

Результаты интерпретируют 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).

Для проведения количественного исследования исходя из заданных значений концентрации ДНК-калибраторов и полученных значений Ct, происходит автоматическое построение калибровочной прямой. Полученные данные используют для расчета значений концентрации выявляемых типов ВПЧ ВКР.

Результаты для контролей этапов экстракции и амплификации должны соответствовать критериям, указанным в табл. 12 и во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Таблица 12

**Результаты для контролей различных этапов
ПЦР-исследования**

Конт- роль	Контролируемый этап ПЦР- исследования	Значение порогового цикла по каналу для флуорофора (Ct)				
		FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
OK	Экстракция ДНК	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
K-	ПЦР	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
K1	ПЦР	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>
K2	ПЦР	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>	<u>определено</u>

Принцип интерпретации результатов указан в таблице 13.

Алгоритм расчета:

1. Расчет количества копий ДНК ВПЧ ВКР и ДНК человека (ВКО Glob) на реакцию исследуемых и контрольных образцов по построенной калибровочной прямой.
2. Расчет количества копий ДНК ВПЧ ВКР в 1 мл исследуемого образца (абсолютная концентрация), согласно формуле:

$$\text{число копий ДНК ВПЧ ВКР на реакцию} \times 100 = \text{копий/мл}$$

3. Расчет количества ДНК ВПЧ ВКР, приходящегося на 1×10^5 клеток человека (относительная концентрация), согласно формуле:

$$\lg \left(\frac{\text{число копий ДНК ВПЧ ВКР в реакцию}}{\text{число копий ДНК человека в реакцию}} \times 2 \cdot 10^5 \right) = \lg \left(\frac{\text{число копий ДНК ВПЧ ВКР на } 10^5 \text{ клеток человека}}{\text{число копий ДНК человека на } 10^5 \text{ клеток человека}} \right)$$

Примечание – Относительная (нормированная) концентрация отражает количество возбудителя относительно клеток человека. Кроме того, значение концентрации ДНК человека позволяет оценить качество взятия биологического материала.

При расчете суммарной концентрации ДНК ВПЧ ВКР учитывается, что по каналам FAM, JOE, Cy5.5 рассчитываются индивидуальные концентрации ВПЧ 16, 18 и 45 типов.

ВНИМАНИЕ! Значения концентраций калибраторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

ВНИМАНИЕ! Допускается использование результатов, полученных для ДНК-калибратора **K1** в предыдущей постановке, выполненной на данном приборе, для проведения последующих постановок с использованием данной серии набора реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL» путем экспорта полученных для ДНК-калибратора **K1** результатов с помощью программного обеспечения прибора. В этом случае необходима постановка только ДНК-калибратора **K2**.

Таблица 13

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Невалидный	Концентрация ДНК ВКО Glob менее 1×10^3 копий/реакция (500 клеток/реакция) и рассчитанные значения ДНК ВПЧ ВКР менее нижней границы диапазона измерения (см. табл. 2) или отсутствуют по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5.5. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае если в исследуемом образце ДНК ВКО Glob отсутствует, необходимо повторно провести взятие биологического материала и ПЦР-исследование
ДНК ВПЧ ВКР не обнаружена	Значение C_t для ДНК ВПЧ ВКР отсутствует, а концентрация ВКО Glob более 1×10^3 копий/реакция (500 клеток/реакция)
менее 3 lg ДНК ВПЧ на 10^5 клеток человека	Клинически малозначимая величина
3–5 lg ДНК ВПЧ на 10^5 клеток человека	Клинически значимая величина. Нельзя исключить дисплазию, существует риск развития дисплазии
более 5 lg ДНК ВПЧ на 10^5 клеток человека	Клинически значимая, повышенная величина. Высокая вероятность наличия дисплазии
Интеграция? (только для 16, 18 и 45 типов)	Выявление области E6 при отсутствии области E1/E2 косвенно предполагает вероятность интеграции вируса в ДНК человека

Если абсолютная концентрация ДНК ВПЧ ВКР в исследуемой пробе выходит за границы диапазона измерения набора реагентов (см. табл. 2) или концентрация ДНК ВКО Glob менее 1×10^3 копий/реакция (500 клеток/реакция) расчет относительной концентрации не проводится, клиническая значимость не определяется.

Возможные ошибки:

1. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX и/или Cy5 и/или Cy5.5 определено значение порогового цикла (C_t). 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 ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК, начиная с этапа экстракции ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К–) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE и/или ROX и/или Cy5 и/или

Су5.5 определено значение порогового цикла (C_t). 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 амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК.

3. Для ДНК-калибраторов K1, K2 отсутствует значение порогового цикла (C_t) по какому-либо из указанных каналов для флуорофоров (см. табл. 12). Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
4. Показатель эффективности E при построении калибровочной прямой менее 80 % или более 120 %. Необходимо проверить правильность заданных концентраций ДНК-калибраторов в соответствии с вкладываемым к набору реагентов и правильность выбранного уровня пороговой линии. Если при правильно заданных концентрациях ДНК-калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
5. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла (C_t), 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.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14 хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru. Отзывы и предложения о продукции АмплиСенс® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно



Код партии



Содержимого достаточно для проведения <п> тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Изготовитель



Дата изготовления

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 38

тридцать восемь лист сб

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)



«06» нояб 20 24 г.
м.п.

А.О.Лисицына



Инструкция по применению набора
реагентов расположена на сайте
www.amplisens.ru



Краткое руководство

набор реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»

Форма 1: **REF** H-2311-1-13



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

IVD

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов. Анализ и интерпретацию результатов необходимо проводить в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Комплекты для экстракции:

– «ДНК-сорб-АМ», «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО», «АмплиСенс® ДНК-сорб-Д».

Контроли: Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

ВНИМАНИЕ! Добавление внутреннего контрольного образца не требуется.

Объем исследуемого образца, контролей и элюции

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

- мазок со слизистой оболочки влагалища, взятый в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)»;	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
- соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятый в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)», в среду для транспортировки образцов «Digene»		
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК

Элюция

все образцы	100 мкл	в каждую пробирку
-------------	---------	-------------------

При экстракции с помощью «АмплиСенс® ДНК-сорб-Д» добавить:

- соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятый в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии	1000 мкл*	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК

Элюция

все образцы	100 мкл	в каждую пробирку
-------------	---------	-------------------

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

- мазок со слизистой оболочки влагалища, взятый в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)»;	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
- соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятый в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)», в среду для транспортировки образцов «Digene»		
- соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), взятый в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии	1000 мкл*	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК

Элюция

все образцы	100 мкл	в каждую пробирку
-------------	---------	-------------------

* Объем и порядок подготовки исследуемого материала см. в инструкции к данному набору реагентов и в инструкции к комплекту реагентов для экстракции.

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ «ПЦР-комплекта» FRT-100 FN

Общий объем реакционной смеси: 25 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).

Контроли: для каждой группы амплифицируемых образцов 2 ДНК-калибратора (K1 и K2); 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

- Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси.
- Разморозить пробирку с **ПЦР-смесью-FL ВПЧ 14**.
- В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь:

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14	10*(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей; 1 – запас
ПЦР-буфер-Н	5*(N+K+1)	

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для ПЦР исследуемых и контрольных образцов:

Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в каждую пробирку
Внести по 10 мкл	
Проб ДНК, экстрагированных из исследуемых образцов	в пробирки для исследуемых образцов, ОК <i>При экстракции с помощью сорбционных методов избегать попадания сорбента в реакционную смесь!</i>
Пробы ДНК, экстрагированной из ОКО	
K1 ВПЧ скрин	в пробирку для ДНК-калибратора K1
K2 ВПЧ скрин	в пробирку для ДНК-калибратора K2

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию также необходима постановка отрицательного контроля ПЦР (K-). Для этого в пробирку с реакционной смесью внести 10 мкл K-.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля и запустить прибор. Рекомендуется:
 - а) перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
 - б) в случае неполной загрузки приборов планшетного типа дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.
- Запрограммировать и запустить амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени»¹.

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

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

Цикл	Программа амплификации «АмплиСенс-1»							
	Приборы роторного типа				Приборы планшетного типа			
	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Кол-во циклов	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Кол-во циклов
1	95	15 мин	-	1	95	15 мин	-	1
2	95	5 с	-	5	95	5 с	-	5
	60	20 с	-		60	20 с	-	
	72	15 с	-		72	15 с	-	
3	95	5 с	-	40	95	5 с	-	40
	60	20 с	FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5		60	30 с	FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	
	72	15 с	-		72	15 с	-	

Настройки приборов роторного и планшетного типа см. во вкладыше к набору реагентов.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов проводить вручную с помощью алгоритма, приведенного в инструкции, или с помощью электронного калькулятора на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14».

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по пяти каналам:

Флуорофор	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
Продукт амплификации	ДНК ВПЧ ВКР 16 типа	ДНК ВПЧ ВКР 18 типа	ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов	ДНК ВКО Glob	ДНК ВПЧ ВКР 45 типа

ВНИМАНИЕ! К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш**, в котором указаны настройки для приборов и значения концентрации калибраторов, необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов.

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 2

дба

лист а

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)



«14» апреля 2024 г.

М.П.

 А.О.Лисицына

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Набора реагентов для количественного определения ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики *in vitro* «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»

Форма 1	LOT 13.10.23	 2023-10-13
		 2024-10-13

ТУ 9398-231-01897593-2015.

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результаты контроля
Положительный результат для образца К1 (калибратор К1)	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Положительный результат для образца К2 (калибратор К2)	Определено значение <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Коэффициент эффективности (Е) при построении калибровочной прямой	Значение укладывается в заданный диапазон*	соответствует
Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 16 типа при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM, ROX, Cy5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 18 типа при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров JOE, ROX, Cy5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 45 типов при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов при исследовании соответствующих образцов контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров ROX, Cy5	соответствует
Изменение фоновой флуоресценции образца К- между первым и 45-м циклом для каждого канала детекции	Не более 1,5 раз	соответствует

* Диапазон коэффициента эффективности (Е) указан во вкладыше к набору реагентов.

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплектации
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета	соответствует	1
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1

Форма 1: **REF** H-2311-1-13

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14 хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи

Руководитель



(Кодва О.И.)
(Ф.И.О.)

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Набора реагентов для количественного определения ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики *in vitro* «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»

Форма 1	LOT A13.10.23	 2023-10-13
		 2024-10-13

ТУ 9398-231-01897593-2015.

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результаты контроля
Положительный результат для образца К1 (калибратор К1)	Определено значение Ct по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Положительный результат для образца К2 (калибратор К2)	Определено значение Ct по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Коэффициент эффективности (E) при построении калибровочной прямой	Значение укладывается в заданный диапазон*	соответствует
Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует по каналам для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 16 типа при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения Ct по каналам для флуорофоров FAM, ROX, Cy5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 18 типа при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения Ct по каналам для флуорофоров JOE, ROX, Cy5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 45 типов при исследовании соответствующего образца контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения Ct по каналам для флуорофоров ROX, Cy5, Cy5.5	соответствует
Набор реагентов должен выявлять ДНК ВПЧ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов при исследовании соответствующих образцов контрольной панели «HPV QP FRT скрин/генотип»	Определены значения Ct по каналам для флуорофоров ROX, Cy5	соответствует
Изменение фоновой флуоресценции образца К- между первым и 45-м циклом для каждого канала детекции	Не более 1,5 раз	соответствует

* Диапазон коэффициента эффективности (E) указан во вкладыше к набору реагентов.

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплектации
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета	соответствует	1
ПЦР-буфер-Н	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К1 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К2 ВПЧ скрин	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	1

Форма 1: **REF** H-2311-1-13

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 3 сут.

Хранение.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 FN хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL ВПЧ 14 хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи



Руководитель ПК

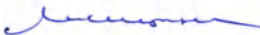
(Коды О.И.)
(Ф.И.О.)

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 3
три лист 9

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)





А.О.Лисицына

«04» апреля 2024 г.
м.п.

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»
Форма 1: REF H-2311-1-13
LOT 13.10.23
Настройки для приборов роторного типа
Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate/Gain Optimization.../ Опт.уровня сигн.	Threshold/ Порог	Dynamic tube/ Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
FAM/Green	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
ROX/Orange	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	7 %
Cy5/Red	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
Cy5.5/Crimson	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	15 %

Примечание - В случае если кривые флуоресценции по каналам FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange, Cy5/Red, Cy5.5/Crimson не соответствуют экспоненциальному росту, допускается увеличение значения порога отрицательных проб (NTC threshold /Порог фона – ПФ) до 10-12%.

Настройки для приборов планшетного типа
CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec**

Канал	Threshold / Порог
FAM, JOE/HEX, ROX, Cy5, Cy5.5	Для каждого канала пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца K2 в последнем цикле амплификации

DT-96/«ДТпрайм»

Метод	Тип анализа	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР	Величина Threshold
Пороговый (Ct)	Ct(Cp) для всех каналов	Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5	90 %	10

Коэффициент эффективности E по графику стандартов для каждого из каналов для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5 и Cy5.5 должен иметь значение в диапазоне 1.0±0.2 (100±20 % в программе прибора планшетного типа).

Характеристика ДНК-калибраторов

ДНК-калибратор	Значения концентрации по каналу для флуорофора, копий/реакцию				
	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
K1 ВПЧ скрин	1 000 000	1 000 000	3 000 000	1 000 000	1 000 000
K2 ВПЧ скрин	1 000	1 000	3 000	1 000	1 000

Действующую версию электронного калькулятора на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» Вы можете получить по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> во вкладке Документация на странице данного набора реагентов в разделе Каталог.

Действующую версию информационного листа «Приоритеты калибровки для наборов реагентов АмплиСенс на амплификаторах Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия)» Вы можете получить в формате PDF-файла по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> в разделе Информационные материалы/Руководства по работе с приборами.

Бумажный вариант документа Вы можете распечатать самостоятельно.

Пожалуйста, пользуйтесь всегда только актуальными версиями электронного калькулятора и информационного листа с указанного интернет-сайта.

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»
Форма 1: REF H-2311-1-13
LOT 13.10.23
Настройки для приборов роторного типа
Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate/Gain Optimization.../ Опт.уровня сигн.	Threshold/ Порог	Dynamic tube/ Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
FAM/Green	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
ROX/Orange	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	7 %
Cy5/Red	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
Cy5.5/Crimson	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	15 %

Примечание - В случае если кривые флуоресценции по каналам FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange, Cy5/Red, Cy5.5/Crimson не соответствуют экспоненциальному росту, допускается увеличение значения порога отрицательных проб (NTC threshold /Порог фона – ПФ) до 10-12%.

Настройки для приборов планшетного типа
CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec**

Канал	Threshold / Порог
FAM, JOE/HEX, ROX, Cy5, Cy5.5	Для каждого канала пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца K2 в последнем цикле амплификации

DT-96/«ДТпрайм»

Метод	Тип анализа	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР	Величина Threshold
Пороговый (Ct)	Ct(Cp) для всех каналов	Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5	90 %	10

Коэффициент эффективности E по графику стандартов для каждого из каналов для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5 и Cy5.5 должен иметь значение в диапазоне 1.0±0.2 (100±20 % в программе прибора планшетного типа).

Характеристика ДНК-калибраторов

ДНК-калибратор	Значения концентрации по каналу для флуорофора, копий/реакцию				
	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
K1 ВПЧ скрин	1 000 000	1 000 000	3 000 000	1 000 000	1 000 000
K2 ВПЧ скрин	1 000	1 000	3 000	1 000	1 000

Действующую версию электронного калькулятора на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» Вы можете получить по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> во вкладке Документация на странице данного набора реагентов в разделе Каталог.

Действующую версию информационного листа «Приоритеты калибровки для наборов реагентов АмплиСенс на амплификаторах Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия)» Вы можете получить в формате PDF-файла по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> в разделе Информационные материалы/Руководства по работе с приборами.

Бумажный вариант документа Вы можете распечатать самостоятельно.

Пожалуйста, пользуйтесь всегда только актуальными версиями электронного калькулятора и информационного листа с указанного интернет-сайта.

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»
Форма 1: REF H-2311-1-13
LOT A13.10.23
Настройки для приборов ротационного типа
Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate/Gain Optimisation.../ Опт.уровень сигн.	Threshold/ Порог	Dynamic tube/ Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
FAM/Green	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
ROX/Orange	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	7 %
Cy5/Red	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
Cy5.5/Crimson	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	15 %

Примечание - В случае если кривые флуоресценции по каналам FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange, Cy5/Red, Cy5.5/Crimson не соответствуют экспоненциальному росту, допускается увеличение значения порога отрицательных проб (NTC threshold /Порог Фона – ПФ) до 10-12%.

Настройки для приборов планшетного типа
CFX96

Примечание - Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec**

Канал	Threshold / Порог
FAM, JOE/HEX, ROX, Cy5, Cy5.5	Для каждого канала пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца K2 в последнем цикле амплификации

DT-96/«ДТпрайм»

Метод	Тип анализа	Каналы	Критерий положительного результата ПЛР	Величина Threshold
Пороговый (С)	С(Ср) для всех каналов	Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5	90 %	10

Коэффициент эффективности E по графику стандартов для каждого из каналов для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5 и Cy5.5 должен иметь значение в диапазоне 1.0±0.2 (100±20 % в программе прибора планшетного типа).

Характеристика ДНК-калибраторов

ДНК-калибратор	Значения концентрации по каналу для флуорофора, копий/реакцию				
	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
K1 ВПЧ скрин	1 000 000	1 000 000	3 000 000	1 000 000	1 000 000
K2 ВПЧ скрин	1 000	1 000	3 000	1 000	1 000

Действующую версию электронного калькулятора на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» Вы можете получить по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> во вкладке Документация на странице данного набора реагентов в разделе Каталог.

Действующую версию информационного листа «Приоритеты калибровки для наборов реагентов АмплиСенс на амплификаторах Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия)» Вы можете получить в формате PDF-файла по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> в разделе Информационные материалы/Руководства по работе с приборами.

Бумажный вариант документа Вы можете распечатать самостоятельно.

Пожалуйста, пользуйтесь всегда только актуальными версиями электронного калькулятора и информационного листа с указанного интернет-сайта.

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14-FL»
Форма 1: REF H-2311-1-13
LOT A13.10.23
Настройки для приборов ротационного типа
Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate/Gain Optimisation.../ Опт.уровень сигн.	Threshold/ Порог	Dynamic tube/ Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
FAM/Green	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
ROX/Orange	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	7 %
Cy5/Red	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	10 %
Cy5.5/Crimson	от 5 FI до 10 FI	0,03	включена	включена	15 %

Примечание - В случае если кривые флуоресценции по каналам FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange, Cy5/Red, Cy5.5/Crimson не соответствуют экспоненциальному росту, допускается увеличение значения порога отрицательных проб (NTC threshold /Порог Фона – ПФ) до 10-12%.

Настройки для приборов планшетного типа
CFX96

Примечание - Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec**

Канал	Threshold / Порог
FAM, JOE/HEX, ROX, Cy5, Cy5.5	Для каждого канала пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца K2 в последнем цикле амплификации

DT-96/«ДТпрайм»

Метод	Тип анализа	Каналы	Критерий положительного результата ПЛР	Величина Threshold
Пороговый (С)	С(Ср) для всех каналов	Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5	90 %	10

Коэффициент эффективности E по графику стандартов для каждого из каналов для флуорофоров FAM, JOE, ROX, Cy5 и Cy5.5 должен иметь значение в диапазоне 1.0±0.2 (100±20 % в программе прибора планшетного типа).

Характеристика ДНК-калибраторов

ДНК-калибратор	Значения концентрации по каналу для флуорофора, копий/реакцию				
	FAM	JOE	ROX	Cy5	Cy5.5
K1 ВПЧ скрин	1 000 000	1 000 000	3 000 000	1 000 000	1 000 000
K2 ВПЧ скрин	1 000	1 000	3 000	1 000	1 000

Действующую версию электронного калькулятора на базе Microsoft® Excel «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-14» Вы можете получить по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> во вкладке Документация на странице данного набора реагентов в разделе Каталог.

Действующую версию информационного листа «Приоритеты калибровки для наборов реагентов АмплиСенс на амплификаторах Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия)» Вы можете получить в формате PDF-файла по интернет-адресу <http://www.amplisens.ru> в разделе Информационные материалы/Руководства по работе с приборами.

Бумажный вариант документа Вы можете распечатать самостоятельно.

Пожалуйста, пользуйтесь всегда только актуальными версиями электронного калькулятора и информационного листа с указанного интернет-сайта.

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 2
960 лист 01

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

А.О.Лисицына

