IVD

Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020

«АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 3
1. НАЗНАЧЕНИЕ 4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 5
2.1. Формы выпуска, состав и комплектность 5
2.2. Принцип метода 7
2.3. Прослеживаемость значений калибраторов K1 HS, K2 HS 8
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 8
3.1. Внутренний контроль качества 8
3.2. Рекомендуемые контрольные материалы 10
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ 11
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ 11
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 13
6.1. Взятие исследуемого материала 13
6.2. Предварительная обработка исследуемого материала 14
6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов 15
6.4. Амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов 16
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 17
7.1. Мазки со слизистой оболочки влагалища 17
7.2. Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала 18
7.3. Соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры 18
7.4. Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки 19
7.5. Мазки со слизистой оболочки ротоглотки 19
7.6. Мазки с конъюнктивы 20
7.7. Моча 20
7.8. Слюна 21
7.9. Секрет предстательной железы 22
7.10. Цельная кровь 22
7.11. Спинномозговая жидкость (ликвор) 23
7.12. Мазки с пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек 23
7.13. Эякулят 23
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 24
8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала 24
8.2. Подготовка реагентов для амплификации 24
8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции 25
8.4. Анализ и вычисление результатов 27
8.5. Интерпретация результатов 28
8.6. Возможные ошибки 29
8.7. Диагностическое значение полученного результата 30
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 31
9.1. Предел обнаружения 31
9.2. Линейный диапазон измерения и предел измерения 31
9.3. Аналитическая специфичность 31
9.4. Воспроизводимость и повторяемость измерения 32
9.5. Правильность измерения 33
9.6. Диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность 33
9.7. Оценка влияния интерферирующих веществ и ДНК человека 35
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА 36
10.1. Срок годности 36
10.2. Транспортирование 36
10.3. Хранение 36
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 36
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 38

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

HSV	– Herpes simplex virus (вирус простого герпеса)
Ct	– Cycle threshold (пороговый цикл)
ВКО	– внутренний контрольный образец
ГЭ	– геномные эквиваленты
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
дНТФ	– дезоксирибонуклеотидтрифосфат
ИППП	– инфекции, передаваемые половым путем
Набор/ АмплиПрайм® HSV I / HSV II	– Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020
ПК	– положительный контроль
K1 HS	– положительный контрольный образец, ДНК-калибратор
K2 HS	– положительный контрольный образец, ДНК-калибратор
ОК	– отрицательный контроль
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РУ	– регистрационное удостоверение
УДГ	– урацил-ДНК-гликозилаза

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® HSV I / HSV II», а также сокращение Набор реагентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» предназначен для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов в биологическом материале (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы; моча, слюна, секрет предстательной железы, цельная кровь, ликвор; отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, эякулят) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

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

1.3. Функциональное назначение: Набор предназначен для диагностики *in vitro* (выявление и количественное определение ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом ПЦР в биологическом материале человека).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на герпесвирусную инфекцию вне зависимости от формы и стадии заболевания всех групп населения, в том числе при скрининге заболеваний органов репродуктивной системы и при обследовании лиц с иммунодефицитными состояниями, а также для мониторинга терапии при рецидивирующей форме заболеваний, вызванных вирусами простого герпеса I и II типов. Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания.

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

1.6. Потенциальные пользователи: Набор реагентов должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

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

1.8. Противопоказания к применению: Нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, несоблюдение требований инструкции.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Формы выпуска, состав и комплектность

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

Форма выпуска 1 включает смесь для проведения ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по пробиркам объемом 0,2 мл. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.

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

Форма выпуска 3 включает смесь для проведения ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по стрипованным (12,5 стрипов по 8 пробирок) пробиркам объемом 0,2 мл. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.

Таблица 1

Состав форм выпуска набора

Компонент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	0,01	100 пробирок	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана под парафин.
ПЦР-буфер-К	1,20	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость красного цвета.
К1 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.
К2 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Компонент	Объем, мл	Количество	Описание
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 2			
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	1,20	1 пробирка	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость.
ПЦР-буфер-Н	0,65	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
К1 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.
К2 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 3			
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок)[1]	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана в стрипованные пробирки под парафин белого цвета.
ПЦР-буфер-К	1,20	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость красного цвета.
К1 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.
К2 HS	0,12	1 пробирка	Положительный контрольный образец, ДНК-калибратор. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (форма выпуска 1,2 или 3)	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Комплект вкладышей к набору	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-

[1] Пробирки с голубым парафином не используются.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2.2. Принцип метода

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом[2] (ВКО-FL) и одновременной амплификации участков ДНК вирусов простого герпеса I *(*HSV I) и II (HSV II) типов и искусственно синтезированной последовательности ДНК ВКО с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в «реальном времени». ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

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

Количественное определение ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса основывается на существовании линейной зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговый цикл, Cycle threshold, Ct). При проведении количественного теста амплификация ДНК из исследуемых образцов проводится одновременно с калибраторами К1 HS и К2 HS – образцами с известной концентрацией ДНК-мишеней. По результатам амплификации калибраторов строится калибровочная линия, по которой происходит определение концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах.

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

[2] ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала, или приобретается дополнительно.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

На этапе амплификации в одной пробирке одновременно амплифицируются участки ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов и последовательность ВКО. Результаты амплификации регистрируются по трем различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

Таблица 3

Соответствие ДНК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	FAM	R6G[3]	Cy5
НК-мишень	ДНК HSV I	ДНК HSV II	ДНК ВКО (экзогенный ВКО)
Область амплификации	Гликопротеин B	Гликопротеин B	Искусственно синтезированная последовательность

2.3. Прослеживаемость значений калибраторов К1 HS, К2 HS

Измерение значений концентрации калибраторов К1 HS и К2 HS производится относительно рабочего калибратора производства ООО «НекстБио». Концентрацию рабочего калибратора определяют стандартизированной методикой прямого измерения концентрации контрольных образцов на основе генно-модифицированных конструкций с использованием метода цифрового ПЦР. Коэффициент вариации измерений аттестованного значения концентраций калибраторов К1 HS и К2 HS составляет не более 5% (с уровнем доверительной вероятности 95%).

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать отрицательный контроль (ОКО). Каждая индивидуальная постановка ПЦР должна включать отрицательный контроль (К-) и положительные контроли (К1 HS и К2 HS). Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов».

Отрицательный контрольный образец (ОКО) тестируется, начиная с этапа экстракции, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должно

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

детектироваться ДНК HSV I и/или HSV II. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружена ДНК HSV I и/или HSV II и контроля, начиная с этапа экстракции.

Отрицательный контрольный образец (К-) тестируется, начиная с этапа амплификации, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должно детектироваться ДНК HSV I и/или HSV II. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружена ДНК HSV I и/или HSV II и контроля, начиная с этапа амплификации.

В качестве положительного контроля используются реагенты K1 HS и K2 HS, входящие в состав набора. В случае несоответствия результатов для положительных контролей заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ПЦР.

3.1.2. Анализ калибровки

Количественная оценка концентрации ДНК HSV I и/или HSV II в исследуемых образцах проводится относительно количественно охарактеризованных калибровочных образцов K1 HS и K2 HS. Исследование калибровочных образцов K1 HS и K2 HS проводится параллельно с исследованием образцов, начиная с этапа ПЦР. Определение концентрации ДНК производится в соответствии с заданными значениями концентраций калибровочных образцов K1 HS и K2 HS и полученными значениями порогового цикла (Ct) для калибровочных образцов K1 HS и K2 HS и исследуемых образцов. Эффективность калибровки укладывается в заданный диапазон. Если эффективность калибровки не укладывается в граничные значения, следует повторить исследование с этапа ПЦР.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.1.3. Контроль ингибирования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено использование экзогенного ВКО[4], который добавляется в каждый исследуемый и отрицательный контрольный образец на этапе экстракции. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности для положительных и отрицательных исследуемых образцов, указанным в разделе «Интерпретация результатов». Если в исследуемых образцах не обнаружена ДНК ВКО, то результаты исследования данных образцов считаются недостоверными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции.

3.1.4. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

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

3.2. Рекомендуемые контрольные материалы

В качестве контрольных материалов для проверки заявленных функциональных характеристик набора могут быть использованы зарегистрированные на территории Российской Федерации панели контрольных образцов, предназначенные для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса.

[4] ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала, или приобретается дополнительно.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

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

4.3. Непригодными для исследования являются образцы цельной крови, взятые в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта и образцы цельной крови, содержащие кровяной сгусток или подвергшиеся заморозке.

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

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

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

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и методических указаний МУ 1.3.2569-09

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

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

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[5], биологический материал[6], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

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

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

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

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08).

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

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

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

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

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

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

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

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

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Транспортная среда с муколитиком для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек), содержащая

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

буферно-солевой раствор с муколитиком, консервантом и стабилизатором (например, «Транспортная среда с муколитиком «АмплиПрайм ТСМ», РУ № ФСР 2012/14205 или другая, зарегистрированная в РФ).

6.1.2. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек), содержащая изотонический водно-солевой раствор с консервантом (например, «Транспортная среда для мазков «АмплиПрайм ТС», РУ № ФСР 2012/14203 или другая, зарегистрированная в РФ).

6.1.3. Зонд для взятия биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек) однократного применения, изготовленный из полипропилена, состоящий из головки (рабочая часть) и ручки. Рабочая часть зонда может отламываться по имеющейся насечке.

6.1.4. Иглы стерильные двусторонние трубчатые к вакуумным пробиркам для взятия венозной крови и система вакуумного забора крови.

6.1.5. Одноразовые иглы для забора ликвора.

6.1.6. Емкость для взятия, транспортировки и хранения биологических образцов объемом до 2 мл, однократного применения, стерильная, с завинчивающейся или плотно защелкивающейся крышкой, изготовленная из полипропилена.

6.1.7. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный.

6.2. Предварительная обработка исследуемого материала

6.2.1. Предварительная обработка мочи

6.2.1.1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 2,0 мл.

6.2.1.2. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

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

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

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

6.2.1.8. Вортекс.

6.2.1.9. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов

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

- набор позволяет выделять ДНК из биологического материала ((соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы; моча, слюна, секрет предстательной железы, цельная кровь, ликвор; отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек)) для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции;
- набор не относится к экспресс-методам экстракции ДНК;
- состав набора включает внутренний контрольный образец;
- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 50 мкл;
- набор позволяет проводить элюцию очищенной ДНК в объеме не менее 100 мкл.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошли следующие наборы реагентов для экстракции ДНК: «АмплиПрайм РИБО-преп» вариант 100 (РУ № ФСР 2012/14017), «МагноПрайм ФАСТ» (РУ № РЗН 2019/8043), «МагноПрайм ЮНИ» (РУ № РЗН 2019/8955), «АмплиПрайм ДНК-сорб-В»[7] (РУ № ФСР 2012/14019).

6.3.2. Реагент ВКО-FL (ООО «НекстБио», Россия) – при использовании наборов реагентов для экстракции «АмплиПрайм РИБО-преп», «МагноПрайм ЮНИ», «АмплиПрайм ДНК-сорб-В».

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

[7] Используется только для экстракции ДНК из эякулята.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки, свободные от ДНКаз, следующих видов (при работе с формой выпуска 2):

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

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – для проведения ПЦР при использовании прибора планшетного типа;

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

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

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

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

6.4.5. Вортекс.

6.4.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.7. Станция автоматическая с модулем для приготовления и дозирования реакционных смесей и комплект расходных материалов к ней согласно инструкции Производителя, - при работе с формой выпуска 2 в случае приготовления реакционных смесей с использованием автоматической станции.

6.4.8. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного типа (например, Rotor-Gene Q), либо планшетного типа (например, QuantStudio 5 или C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96), зарегистрированные в РФ и соответствующие следующим требованиям:

- наличие независимых каналов флуоресцентной детекции для флуорофоров FAM, R6G, Cy5 с характеристиками, указанными в таблице 4.

Таблица 4

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	Длины волн, нм			
	Возбуждения		Детекции	
	Минимум	Максимум	Минимум	Максимум
FAM	450	470	510	530
R6G	515	532	545	580
Cy5	620	640	660	690

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100°С;

- точность поддержания температуры ≤ ±0,4°С;

- скорость нагрева не менее 2°С/сек;

- скорость охлаждение не менее 1°С/сек.

6.4.9. Холодильник от 2 до 8 °С.

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

6.4.11. Емкость для сброса наконечников.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служат:

- соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры);

- соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки;

- отделяемое слизистых оболочек ротоглотки (мазки);

- отделяемое конъюнктивы (мазки);

- моча (осадок первой порции утренней мочи);

- слюна;

- секрет предстательной железы;

- цельная кровь;

- спинномозговая жидкость (ликвор);

- отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек (мазки);

- эякулят.

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

7.1. Мазки со слизистой оболочки влагалища

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внимание! Во избежание контаминации, нельзя обрезать зонд ножницами!

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.2. Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Перед получением материала слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки удалить стерильным марлевым тампоном.

Взятие материала провести из цервикального канала с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощетки или универсального зонда в пробирку с транспортной средой с муколитиком в соответствии инструкцией по применению цитощетки / зонда;

При использовании универсального зонда объем соскобного отделяемого будет меньше.

Допустимо минимальное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови.

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.3. Соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры

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

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
– при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
– при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.4. Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки

Перед взятием мазка провести тщательный туалет с мылом и водой области вокруг анального отверстия.

Взятие материала провести с поверхности боковых стенок ампулы прямой кишки с помощью одноразового стерильного зонда-тампона из полипропилена/полистирола с вискозой или хлопком, в пробирку с транспортной средой, содержащей изотонический водно-солевой раствор с консервантом, в соответствии с инструкцией по применению зонда. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи, крови, гноя и каловых масс.

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

– при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;
– при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
– при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
– при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.5. Мазки со слизистой оболочки ротоглотки

Мазки забирать сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) поместить в стерильную одноразовую пробирку с транспортной средой. Погрузив рабочую часть зонда в транспортную среду, аккуратно обломить пластиковый стержень и оставить рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда, следует максимально полно смыть биоматериал с рабочей части в пробирку с транспортной средой, прижав ее к внутренней стороне пробирки и вращая по 5–10 раз по часовой и против часовой стрелки. Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!

Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и промаркировать.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 72 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 14 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 3 месяцев;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.6. Мазки с конъюнктивы

Материал забирают сухим стерильным ватным тампоном на пластиковой основе под местной анестезией (2 капли раствора декаина). Оттянув нижнее веко, вращающими движениями проводят зонд 4-5 раз по конъюнктиве, захватывая внешний и внутренний углы глаза. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в одноразовую стерильную пробирку с защелкивающейся крышкой объемом 2 мл, содержащую соответствующую транспортную среду. Погрузив рабочую часть зонда в транспортную среду, аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.7. Моча

7.7.1. Порядок сбора

У женщин для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальный сухой стерильный флакон или контейнер объемом 50-60 мл. Сбор мочи провести после тщательного туалета наружных половых органов. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи отделяемым из влагалища. Также не следует производить сбор мочи во время менструации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

У мужчин при мочеиспускании необходимо освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала, полностью оттянув кожную складку. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальный сухой стерильный флакон на 50–60 мл.

Допускается хранение образцов мочи до проведения предобработки:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

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

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.7.2. Предварительная обработка

Флакон с мочой взболтать. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугировать 5 минут при 10 тыс g. При наличии большого количества солей ресуспендировать только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл и затем снова концентрировать. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удалить супернатант, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавить транспортную среду, до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешать содержимое на вортексе.

Допускается хранение предварительно обработанных образцов мочи до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.8. Слюна

Перед получением слюны следует провести трехкратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну забирать в одноразовые сухие стерильные пробирки на 2 мл в количестве не менее 1,0 мл.

Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и промаркировать.

Условия хранения материала:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С — в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С — длительно.

7.9. Секрет предстательной железы

Перед получением секрета предстательной железы головку полового члена обработать стерильным ватным тампоном. Секрет простаты забрать после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. После окончания массажа предстательной железы ее секрет в количестве 0,5–1 мл собрать в одноразовую стерильную сухую пластиковую пробирку объемом 2 мл или стерильный сухой контейнер объемом 50–60 мл.

Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и промаркировать.

При невозможности получить секрет сразу после массажа простаты собрать первую порцию мочи (в которой содержится секрет предстательной железы) в количестве 15–25 мл (см. порядок забора мочи).

Допускается хранение образцов секрета предстательной железы до проведения ПЦР-исследования:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.10. Цельная кровь

Взятие крови следует производить натощак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой диаметром 0,8-1,1 мм в специальную вакуумную систему типа «Vacuette®» с раствором ЭДТА или цитрата натрия. После взятия крови пробирку следует плавно несколько раз перевернуть вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и экстракция ДНК станет невозможной!). После плавного перемешивания пробирку поместить в штатив.

Условия хранения материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов с момента получения материала для количественного определения и в течение 12 часов – для качественного определения;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток.

Недопустимо замораживание образцов цельной крови!

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.11. Спинномозговая жидкость (ликвор)

Спинномозговую жидкость (ликвор) получают с помощью одноразовых игл, в одноразовые пластиковые сухие пробирки объемом 2,0 мл в количестве не менее 1,0 мл.

Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и промаркировать.

Условия хранения и транспортирования материала:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 месяца;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

7.12. Мазки с пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек

Перед взятием материала кожные элементы очищают ватным тампоном, смоченным эфиром или спиртом, затем прокалывают их у основания стерильной иглой или тонким капилляром пастеровской пипетки. Для ускорения поступления материала элемент сверху надавливают пинцетом. Корку или верхнюю часть везикул отделяют от кожи иглой, скальпелем. Исследуемый материал помещают в пробирку с транспортной средой.

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 45 дней;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.13. Эякулят

Получение спермы осуществляют в специальный сухой стерильный контейнер на 50–60 мл.

Условия хранения и транспортирования материала:

- при комнатной температуре — в течение 6 часов;
- при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С — в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С — длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории[8]:

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

8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала

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

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

Экстракция ДНК из каждого исследуемого образца и контролей необходимо проводить в присутствии ВКО. Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой отрицательного контроля (ОК) в одном повторе.

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

- объем реагента ВКО-FL – **10 мкл** в каждую пробирку с исследуемыми и контрольными образцами;
- объем исследуемого образца – **100 мкл** в пробирки для исследуемых образцов;
- объем реагента ОКО – **100 мкл** в пробирку для ОК;
- объем реагента, используемого для элюции ДНК, – **50 – 100 мкл** (согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК).

8.2. Подготовка реагентов для амплификации

8.2.1. При использовании формы выпуска 1

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью HSV I / HSV II** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.2.2. При использовании формы выпуска 2

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

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

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

Таблица 5

Расчет объемов компонентов реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	10,0*(N+1)	N – количество образцов ДНК, полученных на этапе экстракции, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	5,0*(N+1)	

8.2.2.2. Перемешать содержимое пробирок с ПЦР-смесью HSV I / HSV II и ПЦР-буфером-Н, осадить капли на вортексе.

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

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

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.3. При использовании формы выпуска 3

8.2.3.1. Отобрать необходимое количество стрипованных пробирок с **ПЦР-смесью HSV I / HSV II** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

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

8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

При проведении качественного анализа:

а) положительный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца **К2** внести **10 мкл К2 HS**.

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

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

При проведении количественного анализа:

а) Образец **К1** – в одну пробирку внести **10 мкл К1 HS**.

б) Образец **К2** – в одну пробирку внести **10 мкл К2 HS**.

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

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

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

Таблица 6

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[9], Cy5	

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

Примечание - Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

8.3.5. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

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

8.4. Анализ и вычисление результатов

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

ВНИМАНИЕ! Количественный анализ результатов возможно проводить только в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT-Manager версии 2.0 или выше (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/.

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

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

Таблица 7

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	FAM	R6G	Cy5
Продукт амплификации	ДНК HSV I	ДНК HSV II	ДНК ВКО

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

На основании полученных значений порогового цикла (Ct) и заданных значений концентраций для калибраторов строится калибровочная кривая, по которой проводится расчет значений концентрации геномных эквивалентов ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса в 1 мл исследуемых и контрольных образцов.

8.5. Интерпретация результатов

Интерпретацию результатов проводят в двух вариантах:

- вручную в соответствии с таблицей 8 и вкладышем, прилагаемым к набору. Результат исследования считают достоверным, если результаты, полученные для контрольных образцов, соответствуют критериям валидности, указанным в таблице 10;

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager версии 2.0 или выше (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/. Используемые в программном обеспечении алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов и критерии валидности результатов, полученных для контролей, представлены в таблицах 9 и 10 соответственно.

Таблица 8

Интерпретация результатов для исследуемых образцов при проведении качественного анализа

Результат	Интерпретация
Значение Ct по каналу для флуорофора **Cy5 отсутствует** или определено **выше граничного**[10], при этом значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM** и **R6G отсутствуют**.	**Невалидный!** Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Значение Ct по каналам для флуорофоров **FAM и/или R6G** определено **не выше граничного**. При этом кривая флуоресценции данной пробы по данному каналу пересекает пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.	**ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II обнаружена**
Значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM** и **R6G отсутствуют**, а по каналу для флуорофора **Cy5** определено значение Ct **не выше граничного**.	ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса **не обнаружена**

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 9

Интерпретация результатов для исследуемых образцов при проведении количественного анализа

Результат	Интерпретация
Значение Ct по каналу для флуорофора **Cy5 отсутствует** или **определено выше граничного**[11], при этом значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM** и **R6G отсутствуют**.	**Невалидный!** Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Рассчитанное значение концентрации **ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II** (ГЭ/мл) **меньше нижнего предела линейного диапазона измерения** набора	**ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II обнаружена в концентрации менее 2×10^3 ГЭ/мл**
Рассчитанное значение концентрации **ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II** (ГЭ/мл) **находится в пределах линейного диапазона измерения** набора	**ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II обнаружена в концентрации $X\times10^y$ ГЭ/мл**
Рассчитанное значение концентрации **ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II** (ГЭ/мл) **выше верхнего предела линейного диапазона измерения** набора	**ДНК HSV I** и/или **ДНК HSV II обнаружена в концентрации более 1×10^7 ГЭ/мл**
Значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM** и **R6G отсутствуют**, а по каналу для флуорофора **Cy5** определено значение Ct **не выше граничного**	ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса **не обнаружена**

Таблица 10

Критерии валидности для контрольных образцов

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора		
	FAM	R6G	Cy5
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Значение Ct отсутствует		Определено значение Ct не больше граничного
К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует		
К1 HS (К1)	Определено значение Ct		
К2 HS (К2)	Определено значение Ct не выше граничного[11]		
К1 HS (К1) К2 HS (К2)	Показатель эффективности (Е) для калибраторов укладывается в диапазон 0,8 – 1,2		

8.6. Возможные ошибки

8.6.1. Для отрицательного контроля (ОКО) по каналу для флуорофора FAM и R6G/HEX/JOE/VIC определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов или исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемых типов вируса простого герпеса, начиная с этапа экстракции ДНК.

[11] Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.6.2. Для отрицательного контроля (К-) по каналу для флуорофора FAM, и/или R6G/HEX/JOE/VIC и/или Cy5 определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемых типов вируса простого герпеса, начиная с этапа амплификации ДНК.

8.6.3. Если показатель эффективности Е для калибраторов не укладывается в диапазон 0,8 – 1,2, необходимо проверить правильность заданных концентраций калибраторов в соответствии с вкладышем к набору реагентов и правильность выбранного уровня пороговой линии. Если при правильно заданных концентрациях калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить исследование, начиная с этапа ПЦР.

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

8.6.5. В случае получения невалидных результатов требуется повторное исследование образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторно провести взятие и исследование биологического материала.

8.7. Диагностическое значение полученного результата

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Предел обнаружения[12]

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью на каждом виде биоматериала с использованием наборов для экстракции, указанных в пункте 6.3.1. данной инструкции (см. таблицу 11).

Значения характеристики, указанные в таблице 11, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 11

Предел обнаружения набора

Тип HSV	Предел обнаружения по Probit 95%, ГЭ/мл	95%-ый доверительный интервал, ГЭ/мл
HSV I	$1x10^3$	$8,99x10^2$ – $3,67x10^3$
HSV II	$1x10^3$	$7,69x10^2$ - $2,98x10^3$

9.2. Линейный диапазон измерения и предел измерения

Диапазон, в котором набор «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» дает линейный ответ, находится в пределах от $2x10^3$ до $1x10^7$ ГЭ/мл. Предел измерения набора является нижним пределом линейного диапазона измерения набора. Указанные значения характеристики достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

9.3. Аналитическая специфичность

Набор «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» обнаруживает фрагменты ДНК HSV I и HSV II.

Аналитическая специфичность набора оценивалась тестированием ДНК микроорганизмов (см. таблицу 12) и геномной ДНК человека. ДНК микроорганизмов в концентрации не менее $1x10^6$ ГЭ/мл и геномную ДНК человека в концентрации 1 мкг/мл вносили в образцы биологического материала, не содержащие определяемые с помощью набора типы HSV.

Дополнительно подтверждалось отсутствие перекрестных реакций между выявляемыми типами HSV при тестировании ДНК HSV в концентрации не менее $1x10^7$ ГЭ/мл.

[12] Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация ДНК определяемого микроорганизма, при которой 95% тестов дают положительный результат).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 12

Микроорганизмы, ДНК которых использовалась для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы	
Candida albicans	*Neisseria gonorrhoeae*
Chlamydia trachomatis	*Neisseria subflava*
Escherichia coli	*Streptococcus agalactiae*
Mycoplasma genitalium	*Streptococcus pyogenes*
Neisseria mucosa	*Staphylococcus aureus*
Neisseria Sicca	–

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов и геномной ДНК человека, а также ДНК выявляемых типов HSV в высоких концентрациях с использованием набора перекрестных реакций выявлено не было.

9.4. Воспроизводимость и повторяемость измерения

Воспроизводимость и повторяемость измерений с помощью набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» оценивали путем тестирования модельных образцов биологического материала, содержащих ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса в трех диапазонах концентраций (см. таблицу 13 и 14). Модельные образцы были приготовлены разведением стандартных образцов предприятия, содержащих ДНК выявляемых типов вируса простого герпеса, в биологическом материале, не содержащем ДНК указанных типов вируса простого герпеса и каких-либо других возбудителей ИППП. Каждый образец проходил все этапы исследования (экстракцию ДНК, амплификацию ДНК и детекцию результатов).

Тестирование каждого разведения для оценки повторяемости проводилось в 16 повторах, для оценки воспроизводимости – в 32 повторах.

Таблица 13

Повторяемость измерения

Тип HSV	Исходное значение концентрации, ГЭ/мл	Среднее измеренное значение концентрации, log_{10}	Стандартное отклонение (SD), log_{10}	Коэффициент вариации (CV), %
HSV I	от $1x10^4$ до $3x10^4$	4,31	0,13	3,11
HSV II		4,26	0,14	3,23
HSV I	от $1x10^5$ до $3x10^5$	5,30	0,14	2,60
HSV II		5,28	0,15	2,77
HSV I	от $1x10^6$ до $3x10^6$	6,31	0,08	1,29
HSV II		6,29	0,14	2,18

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 14

Воспроизводимость измерения

Тип HSV	Исходное значение концентрации, ГЭ/мл	Среднее измеренное значение концентрации, log_{10}	Стандартное отклонение (SD), log_{10}	Коэффициент вариации (CV), %
HSV I	от $1x10^4$ до $3x10^4$	4,29	0,14	3,19
HSV II		4,31	0,13	3,07
HSV I	от $1x10^5$ до $3x10^5$	5,31	0,14	2,60
HSV II		5,29	0,14	2,71
HSV I	от $1x10^6$ до $3x10^6$	6,31	0,17	2,72
HSV II		6,30	0,17	2,69

9.5. Правильность измерения

Правильность измерения с помощью набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» была определена путем тестирования стандартных образцов предприятия в 40 повторах (см. таблицу 15).

Таблица 15

Правильность измерения

Микроорганизм	Среднее значение измерения, log_{10}	Установленное значение концентрации, log_{10}	Систематическая погрешность (B)	
			log_{10}	%
HSV I	5,72	5,70	0,02	0,34
HSV II	5,71	5,70	0,01	0,16

9.6. Диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность

Для определения диагностических характеристик набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» были использованы 200 образцов соскобного материала или отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, 200 образцов соскоба эпителия со слизистой оболочки прямой кишки, 200 образцов соскобного материала или отделяемого слизистых оболочек ротоглотки, 60 образцов отделяемого конъюнктивы, 60 образцов секрета предстательной железы, 60 образцов мочи, 60 образцов слюны, 60 образцов цельной крови, 40 образцов ликвора, 200 образцов отделяемого пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, 60 образцов эякулята.

В качестве референтного метода, с помощью которого устанавливали наличие или отсутствие ДНК определяемых типов вируса простого герпеса, использовались следующие наборы реагентов:

– Набор реагентов для дифференциального выявления ДНК вирусов простого герпеса 1 и 2 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РеалБест ДНК ВПГ-1/ВПГ-2) по ТУ 9398-278-23548172-2011 (РУ № ФСР 2012/13313);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– Набор реагентов для определения ДНК вируса простого герпеса (HSV) и цитомегаловируса (*CMV*) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики *in vitro* «АмплиПрайм® *HSV* / *CMV»* по ТУ 9398-017-09286667-2014 (РУ № РЗН 2015/3485).

Результаты тестирования набора в сравнении с референтным методом приведены в таблице 16.

Таблица 16

Результаты тестирования образцов биологического материала с помощью набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

Исследуемые образцы		Результаты тестирования		
Тип	**Количество**	**Образцы**	**АмплиПрайм® HSV I / HSV II**	**Наборы сравнения**
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта	200	Положительных	100	100
		Отрицательных	100	100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки	200	Положительных	100	100
		Отрицательных	100	100
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек ротоглотки	200	Положительных	100	100
		Отрицательных	100	100
Отделяемое конъюнктивы	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30
Моча	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30
Слюна	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30
Секрет предстательной железы	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30
Цельная кровь	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30
Ликвор	40	Положительных	20	20
		Отрицательных	20	20
Отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	200	Положительных	100	100
		Отрицательных	100	100
Эякулят	60	Положительных	30	30
		Отрицательных	30	30

Значения диагностической специфичности и чувствительности набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные исходя из полученных данных, приведены в таблице 17.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 17

Диагностические характеристики набора

Тип образцов	Диагностическая специфичность, %	Диагностическая чувствительность, %
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта	100% (97,0-100) %	100% (97,0-100) %
Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки	100% (97,0-100) %	100% (97,0-100) %
Соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек ротоглотки	100% (97,0-100) %	100% (97,0-100) %
Отделяемое конъюнктивы	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %
Моча	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %
Слюна	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %
Секрет предстательной железы	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %
Цельная кровь	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %
Ликвор	100% (86,1-100) %	100% (86,1-100) %
Отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	100% (97,0-100) %	100% (97,0-100) %
Эякулят	100% (90,5-100) %	100% (90,5-100) %

9.7. Оценка влияния интерферирующих веществ и ДНК человека

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом материале, на эффективность ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II» отсутствует. Не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам отделяемого слизистой оболочки влагалища на этапе экстракции интерферирующих веществ, представленных в таблице 18, в максимально возможной концентрации для данных видов биоматериала:

Таблица 18

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
отделяемое слизистой оболочки ротоглотки	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
	мирамистин	0,001 % действующего вещества в 100 мкл
	хлоргексидин	0,1% действующего вещества в 100 мкл
отделяемое конъюнктивы	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
моча	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
	мочевина	0,033 ммоль/100 мкл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
секрет предстательной железы	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
	мочевина	0,033 ммоль/100 мкл
цельная кровь	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
слюна	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
ликвор	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
	мирамистин	0,001 % действующего вещества в 100 мкл

10.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

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

10.2. Транспортирование

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

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

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

10.3. Хранение

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

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

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

11.ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

12.СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Не допускать попадания солнечного света
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»

_____ О. О. Лавинюков

06.07.2021

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДНК ВИРУСОВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА I (HSV I) И II (HSV II) ТИПОВ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® HSV I / HSV II» ПО ТУ 21.20.23-084-09286667-2020

Форма выпуска 1
Форма выпуска 2
Форма выпуска 3

Краткое руководство по применению версии 06.07.21

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Руководитель отдела разработки производственной документации ООО «НекстБио»

_____ М. Н. Гарас

06.07.2021

Младший специалист по документации отдела разработки производственной документации ООО «НекстБио»

_____ Л. М. Самигуллина

06.07.2021

Директор научно-производственного комплекса ООО «НекстБио»

_____ М. Е. Сенина

06.07.2021.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II»
по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020

«АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

Форма выпуска 1

REF P2048-41

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

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры);
- ✓ соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки;
- ✓ отделяемое слизистых оболочек ротоглотки (мазки);
- ✓ отделяемое конъюнктивы (мазки);
- ✓ моча (осадок первой порции утренней мочи);
- ✓ слюна;
- ✓ секрет предстательной железы;
- ✓ цельная кровь;
- ✓ спинномозговая жидкость (ликвор);
- ✓ отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек (мазки);
- ✓ эякулят.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	Прозрачная жидкость, раскапана под парафин	0,01	100 пробирок
ПЦР-буфер-К	Прозрачная жидкость красного цвета	1,20	1 пробирка
К1 HS	Прозрачная жидкость	0,12	1 пробирка
К2 HS		0,12	1 пробирка
ОКО		1,10	1 пробирка
К-		0,26	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

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

ХРАНЕНИЕ

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

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

Добавляемый реагент / образец		
ВКО	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	50-100 мкл[1]	в каждую пробирку

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

1. Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью HSV I / HSV II для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов, полученной на этапе экстракции.
2. Внести в подготовленные пробирки ПЦР-буфер-К и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 10 мкл	
ПЦР-буфер-К	в пробирки с ПЦР-смесью HSV I / HSV II на поверхность парафина **ВНИМАНИЕ!** ПЦР-буфер-К не должен проваливаться под парафин.
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы ДНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Проба, экстрагированная из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
Реагент К-	в пробирку для образца К– (отрицательного контроля ПЦР)
К2 HS *(при проведении качественного и количественного анализа)*	в пробирку для образца К2
К1 HS *(при проведении только количественного анализа)*	в пробирку для образца К1

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

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[2], Cy5	

[1] Согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Примечания

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

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

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

Примечание - Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

5. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в качественном и количественном формате в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT-Manager версии 2.0 или выше (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	1 - 3	4	-	4	09286667.037.4/5-2021	Л.М. Самигуллина	06.07.21

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II»
по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020

«АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

Форма выпуска 2

REF 2048-42

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

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры);
- ✓ соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки;
- ✓ отделяемое слизистых оболочек ротоглотки (мазки);
- ✓ отделяемое конъюнктивы (мазки);
- ✓ моча (осадок первой порции утренней мочи);
- ✓ слюна;
- ✓ секрет предстательной железы;
- ✓ цельная кровь;
- ✓ спинномозговая жидкость (ликвор);
- ✓ отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек (мазки);
- ✓ эякулят.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	Прозрачная жидкость	1,20	1 пробирка
ПЦР-буфер-Н		0,65	1 пробирка
К1 HS		0,12	1 пробирка
К2 HS		0,12	1 пробирка
ОКО		1,10	1 пробирка
К-		0,26	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

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

ХРАНЕНИЕ

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

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

Добавляемый реагент / образец		
ВКО	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	50-100 мкл[1]	в каждую пробирку

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

1. Рассчитать объем реагентов, необходимый для приготовления реакционной смеси, согласно таблице:

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	**10,0***(N+1)	**N** – количество образцов ДНК, полученных на этапе экстракции, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	**5,0***(N+1)	

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

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

2. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с ПЦР-смесью HSV I / HSV II и ПЦР-буфером-Н, осадить капли на вортексе.
3. Приготовить реакционную смесь в отдельной пробирке, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов, полученной на этапе экстракции.
5. Внести в подготовленные пробирки реакционную смесь и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в пробирки для исследуемых и контрольных образцов
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы ДНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Проба, экстрагированная из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
Реагент К-	в пробирку для образца К– (отрицательного контроля ПЦР)
К2 HS *(при проведении качественного и количественного анализа)*	в пробирку для образца К2
К1 HS *(при проведении только количественного анализа)*	в пробирку для образца К1

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

[1] Согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[2], Cy5	

Примечания

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

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

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

Примечание - Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

8. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в качественном и количественном формате в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT-Manager версии 2.0 или выше (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	1 - 3	4	-	4	09286667.037.4/5-2021	Л.М. Самигуллина	06.07.21

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вирусов простого герпеса I (HSV I) и II (HSV II) типов методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HSV I / HSV II»
по ТУ 21.20.23-084-09286667-2020

«АмплиПрайм® HSV I / HSV II»

Форма выпуска 3

REF P2048-43

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

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры);
- ✓ соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки;
- ✓ отделяемое слизистых оболочек ротоглотки (мазки);
- ✓ отделяемое конъюнктивы (мазки);
- ✓ моча (осадок первой порции утренней мочи);
- ✓ слюна;
- ✓ секрет предстательной железы;
- ✓ цельная кровь;
- ✓ спинномозговая жидкость (ликвор);
- ✓ отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек (мазки);
- ✓ эякулят.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь HSV I / HSV II	Прозрачная жидкость, раскапана под парафин	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок)[1]
ПЦР-буфер-К	Прозрачная жидкость красного цвета	1,20	1 пробирка
К1 HS	Прозрачная жидкость	0,12	1 пробирка
К2 HS		0,12	1 пробирка
ОКО		1,10	1 пробирка
К-		0,26	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	форма выпуска 3
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

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

[1] Пробирки с голубым парафином не используются.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для экстракции ДНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в инструкции по применению набора «АмплиПрайм® HSV I / HSV II». Порядок работы с наборами для экстракции ДНК смотрите в инструкции по их применению.

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

Добавляемый реагент / образец		
ВКО	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля экстракции)
Реагент для элюции ДНК	50-100 мкл[2]	в каждую пробирку

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

1. Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью HSV I / HSV II для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов, полученной на этапе экстракции.
2. Внести в подготовленные пробирки ПЦР-буфер-К и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 10 мкл	
ПЦР-буфер-К	в пробирки с ПЦР-смесью HSV I / HSV II на поверхность парафина **ВНИМАНИЕ!** ПЦР-буфер-К не должен проваливаться под парафин.
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы ДНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Проба, экстрагированная из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
Реагент К-	в пробирку для образца К– (отрицательного контроля ПЦР)
К2 HS *(при проведении качественного и количественного анализа)*	в пробирку для образца К2
К1 HS *(при проведении только количественного анализа)*	в пробирку для образца К1

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

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[3], Cy5	

[2] Согласно инструкции по применению к используемому набору для экстракции НК.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Примечания

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

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

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

Примечание - Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

5. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в качественном и количественном формате в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT-Manager версии 2.0 или выше (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	1 - 3	4	-	4	09286667.037.4/5-2021	Л.М. Самигуллина	06.07.21

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»

_____ О.О. Лавинюков

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru