

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2025/24831 от 14 февраля 2025 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов ФЕМОФЛОР®II в фасовке S.**
Перед началом работы изучите инструкцию.**Набор реагентов для количественной оценки состава микробиоты,
качественного и количественного определения ДНК основных
патогенных микроорганизмов в репродуктивном тракте женщин
методом ПЦР в режиме реального времени****ФЕМОФЛОР®II****REF R1-P811-S3/6 (Фасовка S, стрипы)****Информация о наборе реагентов****Назначение:**

Набор реагентов предназначен для количественного определения ДНК бактерий, человека, представителей нормобиоты *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* / *Lactobacillus mulieris*, *Lactobacillus gasseri* / *paragasseri*, *Bifidobacterium* spp., условно-патогенных микроорганизмов *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Candida* spp., *Candida albicans*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Fannyhessea vaginae*, *Mobiluncus* spp., *Anaerococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp. / *Porphomonas* spp. / *Prevotella* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., BVAB1 / BVAB2 / BVAB3, качественного и количественного определения ДНК патогенных микроорганизмов *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, HSV2, CMV, HPV 16, HPV 18, HPV 45, HPV 31/33/35/39/51/52/56/58/59/66/68 в биологическом материале из репродуктивного тракта женщин (мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, влагиалища) методом ПЦР в режиме реального времени.

Выделение ДНК:

Рекомендуются наборы/комплекты реагентов для выделения НК ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-МЧ-РАПИД II, ПРОБА-МЧ МАКС (ООО «ДНК-Технология ТС»).

Специализированное оборудование:

Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»¹, «ДТлайт»² (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Количество анализируемых образцов:

12 определений (не более 4 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином Стрип №1	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Смеси для амплификации, запечатанные парафином Стрип №2	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ³	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов	24 шт.		

¹ – модификация 5M*² – модификация 5S*³ – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

Т а б л и ц а 1 – Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ про- бирки	Каналы детекции					Цветовая маркировка смеси для амплификации
	Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5	
Стрип №1						
1	ОКБ	BK	-	-	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Голубая
2	<i>Lactobacillus</i> spp.	BK	Маркер	-	-	Бесцветная или розовая
3	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus iners</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i> / <i>Lactobacillus mulieris</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i> / <i>Lactobacillus paragasseri</i>	-	
4	<i>Staphylococcus</i> spp.	BK	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	
5	<i>Mobiluncus</i> spp.	BK	-	<i>Haemophilus</i> spp.	-	
6	<i>Anaerococcus</i> spp.	BK	<i>Fannyhessea vaginae</i>	-	-	
7	<i>Bacteroides</i> spp./ <i>Porphyromonas</i> spp./ <i>Prevotella</i> spp.	BK	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	-	
8	<i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.	BK	-	-	-	
Стрип №2						
1	<i>Megasphaera</i> spp./ <i>Veillonella</i> spp./ <i>Dialister</i> spp.	BK	-	-	-	Бесцветная или розовая
2	BVAB1/BVAB2/ BVAB3	BK	-	-	-	Голубая
3	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	BK	Маркер	<i>Bifidobacterium</i> spp.	-	Бесцветная или розовая
4	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>	ГДЧ	-	
5	<i>Candida</i> spp.	BK	<i>Candida albicans</i>	-	-	
6	<i>Trichomonas vaginalis</i>	BK	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
7	HSV2	BK	CMV	HSV1	-	
8	HPV 16	BK	HPV 31/33/35/39/51/52 /56/58/59/66/68	HPV 18	HPV 45	

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

- 1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирку со смесью для амплификации!
- 2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

1.1 Промаркируйте по два стрипа (Стрип №1 и Стрип №2) со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

П р и м е ч а н и е – Два стрипа рассчитаны на исследование одного образца.

1.2 Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

1.3 Внесите в каждую пробирку промаркированных стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.

1.4 Внесите в каждую пробирку промаркированных стрипов по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте стрипы крышками.

1.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца перед внесением в пробирки с реакционной смесью необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.
2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС (только в случае, если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки) необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
3. При использовании для выделения ДНК наборов реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД и ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех стрипов, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Необходимо закрывать стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

- 1.6** Внесите в каждую пробирку соответствующих промаркированных стрипов, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В стрипы, промаркированные «К–» и «К+», ДНК не вносится.
- 1.7** Внесите в каждую пробирку стрипов, промаркированных «К–», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.
- 1.8** Внесите в каждую пробирку стрипов, промаркированных «К+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 1.9** Центрифугируйте все стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 1.10** Установите все стрипы в детектирующий амплификатор.
- 1.11** Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ²	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

¹ – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов

² – допускается хранение при температуре 10 °C

- 2 Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.
- 2.1** При анализе результатов необходимо учитывать значения контрольных показателей (ОКБ, пробирка №1 Стрипа №1, канал Fam; ГДЧ, пробирка №4 Стрипа №2, канал детекции Cy5) и внутреннего контроля (ВК, пробирки №№ 1–2, 4–8 Стрипа №1 и пробирки №№ 1–3, 5–8 Стрипа №2, канал детекции Hex):
- по показателям ОКБ и ГДЧ определяется достаточность количества биоматериала для оценки количества нуклеиновой кислоты и УПМ;
 - для патогенных микроорганизмов результат учитывается независимо от значений ОКБ и ГДЧ;
 - для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции используется ВК (отсутствует в пробирке №3 Стрипа №1 и пробирке №4 Стрипа №2). При отрицательных результатах, полученных в одной пробирке одновременно для ВК по каналу детекции Hex и для выявляемых аналитов по соответствующим каналам детекции (за исключением пробирок без ВК), результат исследования для данного образца считается недостоверным (нд).
- 2.2** В образцах исследуемого биоматериала, содержащих ДНК выявляемых аналитов в концентрации выше порога обнаружения, но ниже порога измерения будет указано – «обнаружено, ниже порога измерения». В случае, если количество ДНК аналита превышает порог измерения, результат будет представлен в виде Lg ГЭ/мл образца. Для ДНК патогенных микроорганизмов, выявленных в количестве ниже порога измерения, будет указан положительный результат («+») для соответствующего аналита. Результат, полученный для ВК, в этом случае не учитывается.
- 2.3** В образцах исследуемого биоматериала, содержащих ДНК выявляемых аналитов (за исключением патогенных микроорганизмов), в концентрации ДНК ниже порога обнаружения будет указан отрицательный результат для соответствующих аналитов («-») и положительный результат для ВК (за исключением пробирок без ВК).
- 2.4** Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов:
- 2.4.1** Для отрицательного контрольного образца должен быть получен отрицательный результат для выявляемых аналитов по соответствующим каналам детекции и положительный результат для ВК (за исключением пробирок без ВК) по каналу детекции Hex.
- Результаты ниже порога обнаружения для всех аналитов, **за исключением** *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, HSV2, CMV, HPV 16, HPV 18, HPV 45, HPV 31/33/35/39/51/52/56/58/59/66/68 считаются отрицательными.
- При получении положительного результата для выявляемых аналитов для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считаются недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.
- 2.4.2** Для положительного контрольного образца должен быть получен положительный результат (5,0 ± 1,0 Lg ГЭ/мл). Результат, полученный для ВК, в этом случае не учитывается.
- При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в защищенном от света месте.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

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

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

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

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

www.dna-technology.ru