ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

FLASH

443-5 2026-03-18

IVD

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления ДНК
гарднереллы вагиналис (*Gardnerella vaginalis*)
методом полимеразной цепной реакции

ГАРД-ГЕН

Регистрационный номер
ФСР 2008/03846 (ЕРУЛ - Г004-00110-00/02940364) от 19.02.2026

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ 6
2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ 7
2.1 Состав набора реагентов 7
2.2 Количество анализируемых образцов 8
2.3 Принцип метода 9
2.4 Время проведения анализа 10
3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ 10
3.1 Аналитическая специфичность 10
3.2 Интерферирующие вещества 10
3.3 Предел обнаружения 11
3.4 Диагностические характеристики 11
4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 12
5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 14
6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ 16
6.1 Материал для исследования 16
6.2 Общие требования 16
6.3 Взятие материала на исследование 17
6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала 19
6.5 Подготовка биологического материала человека для выделения ДНК 19
7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА 20
7.1 Выделение ДНК из биологического материала 20
7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S 20
7.3 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, ручное дозирование 25
7.4 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, с использованием дозирующего устройства ДТстрим 28
8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ 30
9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ 31
10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ 32
11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ 34
12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ 34
13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ 34
14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ 35
15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ 36
16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ 37
Приложение А 38
Приложение Б 39
Приложение В 40

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
БВ	- бактериальный вагиноз
ВК	- внутренний контроль
ДИ	- доверительный интервал
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
К–	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНКазы	- рибонуклеазы

ВВЕДЕНИЕ

Gardnerella vaginalis – наиболее изученный вагинальный анаэроб, который наряду с другими анаэробными бактериями, участвует в развитии бактериального вагиноза (БВ) у женщин [1,2,3] и может вызывать воспалительные заболевания нижних отделов мочеполовых путей у мужчин [4,5,6].

Классическими симптомами бактериального вагиноза считаются жидкие прозрачные, белые или серые гомогенные выделения с неприятным запахом, отсутствие вагинита, однако лишь около 50% женщин с БВ имеют характерные симптомы, часто клинические симптомы отсутствуют или неспецифичны для БВ, у многих женщин БВ протекает бессимптомно.

Осложнениями БВ являются воспалительные заболевания органов малого таза (эндометрит, сальпингит, тубоовариальный абсцесс) [7, 8, 9]. БВ является фактором риска инфекционных осложнений при медицинских и спонтанных абортах.

Беременные женщины с БВ имеют более высокий риск преждевременного разрыва околоплодных оболочек и преждевременного рождения детей с низким весом [10], а также развития послеродового эндометрита.

Низкая чувствительность стандартных методов диагностики и появление новых методов идентификации микроорганизмов на основе амплификации нуклеиновых кислот, методов, обладающих чувствительностью, близкой к 100%, позволило сделать заключение об их эффективности для идентификации *Gardnerella vaginalis* и своевременно назначать соответствующую терапию.

Список литературы

1. Srinivasan S., Hoffman N.G., Morgan M.T., Matsen F.A., Fiedler T.L., Hall R.W., et al. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analyses reveal relationships of microbiota to clinical criteria. PLoS One. 2012; 7(6) doi: 10.1371/journal. pone. 0037818.
2. Fredricks D.N., Fiedler T.L., Thomas K., Oakley B.B., Marrazzo J.M. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 2007; 45:3270–3276.
3. Zozaya-Hinchliffe M., Lillis R., Martin D.H., Ferris M.J. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 2010; 48:1812–1819.
4. Horner P.J., Blee K., Falk L., Meijden W., Moi H. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS, 2016 Oct; 27(11):928–37.
5. Keane F.E., Thomas B.J., Whitaker L., et al. An association between non-gonococcal urethritis and bacterial vaginosis and the implications for patients and their sexual partners. Genitourin Med 1997; 73:373–7.
6. Kinghorn G.R., Jones B.M., Chowdhury F.H., Geary I. Balanoposthitis associated with Gardnerella vaginalis infection in men. Br J Vener Dis 1982; 58:127–9.
7. Hillier S.L., Kiviat N.B., Hawes S.E. et al. Role of bacterial vaginosis-associated microorganisms in endometritis. Am J Obstet Gynecol. 1996; 175:435–441.
8. Larsson P.G., Bergmann B., Forsum U. et al. Treatment of bacterial vaginosis in women with vaginal bleeding complications or discharge and haboring Mobiluncus. Gynecol Obstet Invest. 1990; 29:296–300.
9. Swidsinski A., Verstraelen H., Loening-Baucke V. et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. PLoS One. 2013; 8:e53997. [PMCID: PMC3540019].
10. McGregor J.A., French J.L., Seo K. Premature rupture of the membranes and bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol. 1993; 169:463–466.

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления ДНК гарднереллы вагиналис (*Gardnerella vaginalis*) методом полимеразной цепной реакции (ГАРД-ГЕН), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выявления ДНК гарднереллы вагиналис (*Gardnerella vaginalis*) методом ПЦР в биологическом материале человека: соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта, моча, секрет простаты, эякулят.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования: симптомы инфекционного или воспалительного заболевания мочеполового тракта, контроль лечения инфекции, вызванной *Gardnerella vaginalis*.
Противопоказаний к применению нет.

1.5 Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории: врач клинико-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов ГАРД-ГЕН выпускается в следующих вариантах исполнения:

– ПЦР с детекцией в режиме реального времени;

– ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке.

Варианты исполнения различаются способом детекции амплифицированной ДНК *Gardnerella vaginalis*:

- «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» (маркируется – «Real-time») – предназначен для детекции результатов ПЦР во время амплификации с помощью детектирующих амплификаторов;
- «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке» (маркируется – «Flash») – предназначен для детекции результатов ПЦР после окончания амплификации с использованием ПЦР-детектора.

2.1 Состав набора реагентов

2.1.1 ПЦР с детекцией в режиме реального времени

REF **R1-P108-S3/9, фасовка S, стрипы**			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец[1]	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт		

REF **R1-P108-23/9, фасовка S, пробирки**			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец[1]	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

[1] – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

REF R1-P108-UA/9, фасовка U			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 пробирка	600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	30 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	600 мкл
Положительный контрольный образец[1]	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

2.1.2 ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке

REF F1-P108-51/1, фасовка S, пробирки 0,5 mL			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	100 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
ПЦР-буфер (фон)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	200 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец[1]	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

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

Комплектность:

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

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов в фасовке S рассчитан на проведение 96 определений для варианта исполнения «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» и 100 определений для варианта исполнения «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке», включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов, положительных контрольных образцов и фоновых пробирок. Для варианта исполнения «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» предусмотрено не более 24 постановок, для варианта исполнения «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке» – не более 10 постановок.

[1] – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

Набор реагентов в фасовке U рассчитан на проведение 96 определений при условии постановки не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов: в режиме реального времени, с флуоресцентной детекцией по конечной точке; качественный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается для фасовки S методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки. «Горячий» старт для фасовки U обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94 °С. Это исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором или ПЦР-детектором.

Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в варианте исполнения «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» или после проведения амплификации в варианте исполнения «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке».

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой ДНК, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Hex. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam/Green	Hex/Yellow/Vic	Rox/Orange	Cy5/Red	Cy5.5/Crimson
Gardnerella vaginalis	ВК	–	–	–

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка), ПЦР-амплификация ДНК *Gardnerella vaginalis* и детекция продуктов амплификации с использованием набора реагентов ГАРД-ГЕН. При использовании наборов реагентов в варианте исполнения «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» этапы ПЦР-амплификации ДНК и детекции ДНК совмещены.

2.4 Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2 часов (в зависимости от количества образцов и используемого набора/комплекта реагентов для выделения ДНК).

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала человека, содержащего ДНК *Gardnerella vaginalis*, программное обеспечение ПЦР-детектора («ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке») или детектирующего амплификатора («ПЦР с детекцией в режиме реального времени») должно регистрировать положительный результат амплификации специфического продукта (фрагмента генома *Gardnerella vaginalis*).

В образцах биологического материала, не содержащего ДНК *Gardnerella vaginalis*, программное обеспечение детектирующего амплификатора или ПЦР-детектора должно регистрировать отрицательный результат амплификации специфического продукта (фрагмента генома *Gardnerella vaginalis*) и положительный результат амплификации внутреннего контроля.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце ДНК *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma parvum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis, Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., а также ДНК человека в концентрации до $1{,}0\times10^8$ копий/мл образца.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта (см. 2.3, 9.4, 9.5).

К ингибиторам ПЦР относятся следующие вещества: присутствие в образце слизи, примесей крови; лубриканты, тальк, местные лекарственные препараты.

Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия биологического материала. При подозрении на наличие в образце большого количества ингибиторов ПЦР рекомендуется выбирать методы выделения ДНК, позволяющие максимально удалить ингибиторы ПЦР из образца, не рекомендуется использовать экспресс-методы выделения ДНК.

3.3 Предел обнаружения

50 копий ДНК *Gardnerella vaginalis* на амплификационную пробирку.

Предел обнаружения установлен путем анализа серийных разведений лабораторного контрольного образца (ЛКО). Для каждой концентрации было проведено 94 определения.

Концентрация ЛКО, копий на амплификационную пробирку	**Количество повторов**	**Количество положительных результатов**	**% положительных результатов**
100	94	94	100
50	94	94	100
25	94	19	20,2
0	94	0	0,0

Примечание – Предел обнаружения ДНК *Gardnerella vaginalis* в образце зависит от метода пробоподготовки образца и конечного объёма выделенной ДНК (объёма элюции).

Пример:

Предел обнаружения 50 копий на амплификационную пробирку соответствует следующим значениям концентрации ДНК *Gardnerella vaginalis* при использовании наборов/комплектов для выделения нуклеиновых кислот производства ООО «ДНК-Технология ТС»:

Образец	**Наборы/комплекты для выделения нуклеиновых кислот**			
	ПРОБА-НК	**ПРОБА-ГС**	**ПРОБА-МЧ-РАПИД (при элюции в 300 мкл)**	**ПРОБА-РАПИД**
– Соскоб эпителиальных клеток в 500 мкл транспортной среды; – Эякулят в 500 мкл транспортной среды; – Секрет простаты в 500 мкл транспортной среды; – Моча (при выделении из 1,0 мл образца)	500 копий/образец	1000 копий/образец	3000 копий/образец	5000 копий/образец

3.4 Диагностические характеристики

Количество образцов (n) – 398.

Диагностическая чувствительность составляет (95% ДИ): 98,9% (97,2–99,6%).

Диагностическая специфичность составляет (95% ДИ): 97,0% (93,9–98,6%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

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

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

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	**Наличие/отсутствие опасного компонента**		**Указание на риски**
	Фасовка S	Фасовка U	
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	–	–
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	–	–
Минеральное масло	Нет опасных веществ	–	–
ПЦР-буфер (фон)	Нет опасных веществ	–	–
Смесь для амплификации	–	Нет опасных веществ	–
Полимераза ТехноТаq MAX	–	Нет опасных веществ	–
ПЦР-буфер	–	Нет опасных веществ	–
Положительный контрольный образец	**Азид натрия менее 0,1%**	**Азид натрия менее 0,1%**	Является безопасным для конечного пользователя

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

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

Не использовать набор реагентов:

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

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Real-time		Flash
	Фасовка S	Фасовка U	
ПЦР-бокс	да	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени[1]	да	да	нет
Детектор флуоресценции ДФ-520/560-«ДЖИН», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2007/01274 или Детектор флуоресцентный «ДЖИН-4», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2007/01249	нет	нет	да
Термостат программируемый ТП4-ПЦР-01-«Терцик», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ №ФСР 2007/01275	нет	нет	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да[2]	да	нет
холодильник с морозильной камерой	да	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл	да	да[3]	нет
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да[2]	нет	нет
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,5 мл	нет	нет	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл	да	да	да
дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объём жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл	да	да	да
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл	да	да	да
одноразовые наконечники для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл, 1000 мкл	да	да	да
штатив для дозаторов	да	да	да
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	да	да	да
пробирки амплификационные объёмом 0,2 мл с крышками	нет	да[3]	нет
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да	да
транспортная среда (при необходимости)	да	да	да
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости)	да	да	да

[1] – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже
[2] – только для фасовки S, стрипы
[3] – только для ручного дозирования

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Real-time		Flash
	Фасовка S	Фасовка U	
Устройство дозирующее ДТстрим в варианте исполнения 12М1 или 15М1, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982	нет	да[1]	нет
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим в комплектации *М1, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	нет	да[1]	нет
Устройство для запечатывания планшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология»	нет	да[1]	нет
центрифуга с RCF (g) не ниже 100, с адаптером для микропланшетов	нет	да[1]	нет
полимерная термопленка для запечатывания микропланшетов 384 лунки	нет	да[1]	нет
микропланшет ПЦР 384 лунки	нет	да[1]	нет
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала[2]: – Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС по ТУ 9398-035-46482062-2009 в форме комплектации: комплект ПРОБА-НК, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867; – Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в форме комплектации: ПРОБА-ГС, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08696; – Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-МЧ по ТУ 9398-088-46482062-2016 в форме комплектации ПРОБА-МЧ-РАПИД, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2017/5753; – Комплект реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД по ТУ 9398-015-46482062-2008 ООО «ДНК-Технология ТС», РУ № ФСР 2008/02939			

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

- обеспечивается работа с объемом реакционной смеси 35 мкл (фасовка S) или 18 мкл (фасовка U);
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex (Vic);
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек;
- точность поддержания и однородность температуры не более ± 0,4 °С.

[1] – только для автоматизированного дозирования
[2] – возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК *Gardnerella vaginalis* определяется видом биологического материала

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- «ДТпрайм» (модификация «ДТпрайм *M*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- «ДТпрайм» (модификация «ДТпрайм *X*») ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 (только для набора реагентов в фасовке U для автоматизированного дозирования);
- «ДТлайт» (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228;
- Rotor-Gene Q, QIAGEN GmbH, Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595 (только для набора реагентов в фасовке S, пробирки; в фасовке U для ручного дозирования);
- CFX96, Био-Рад Лабораториез, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399;
- Applied Biosystems QuantStudio 5, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.», Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446.

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

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют соскобы эпителиальных клеток из урогенитального тракта, мочу, секрет простаты, эякулят.

6.2 Общие требования

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

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

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

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

Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить биологический материал, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

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

6.3 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Перед выделением ДНК может потребоваться предварительная обработка образцов биологического материала (6.5).

6.3.1 Соскобное отделяемое урогенитального тракта (цервикального канала, влагалища, уретры)

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

ВНИМАНИЕ! Использование цитощёток для взятия соскобов из урогенитального тракта противопоказано при беременности.

Ограничение метода[1]: местное применение лекарственных препаратов, использование лубрикантов, УЗИ вагинальным датчиком менее чем за 24 часа до исследования.

Взятие соскобов проводится:

- в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 300–500 мкл стерильного физиологического раствора;
- в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований;
- в пробирки с реактивом «ПРОБА-РАПИД» (производитель ООО «ДНК-Технология ТС»).

Примечание – «ПРОБА-РАПИД» не рекомендуется для выделения ДНК из соскобов из урогенитального тракта у мужчин.

ВНИМАНИЕ! Взятие материала в пробирки с реактивом «ПРОБА-РАПИД» осуществляется сухим зондом! Необходимо исключить контакт растворов с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

Взятие материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

6.3.1.1 Особенности взятия урогенитальных соскобов

Женщины накануне обследования не должны проводить туалет половых органов и спринцевание. Для получения объективного результата необходимо, чтобы исследуемый материал содержал возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи и примеси крови.

[1] – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектам реагентов для выделения НК

ВНИМАНИЕ! Перед получением соскоба эпителиальных клеток из уретры, с заднего свода влагалища и цервикального канала свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном.

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

6.3.1.2 Особенности взятия материала из влагалища

Материал должен быть взят до проведения мануального исследования. Зеркало перед манипуляцией можно смочить горячей водой, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано. Соскоб берут с заднебокового свода влагалища. У девочек взятие материала производят со слизистой оболочки преддверия влагалища, а в отдельных случаях – из заднего свода влагалища через гименальные кольца.

6.3.1.3 Особенности взятия материала из уретры

Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5–2 часов.

Непосредственно перед взятием биоматериала необходимо обработать наружное отверстие уретры тампоном, который можно смочить стерильным физиологическим раствором.

При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15–20 минут после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия биоматериала. В уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0–1,5 см, у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.

6.3.1.4 Особенности взятия материала из цервикального канала

Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводят в цервикальный канал на глубину 0,5–1,5 см. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание стенок влагалища.

6.3.2 Первая порция утренней мочи

Первую порцию утренней мочи в качестве биологического материала используют при остром воспалительном процессе нижних отделов мочеполового тракта в связи с выраженной болезненностью взятия соскоба эпителиальных клеток.

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 10–15 мл. Возможно исследование первой порции мочи, полученной через два и более часов после предшествующего мочеиспускания.

Взятие мочи проводят в специальный сухой стерильный контейнер объёмом до 60 мл, снабжённый герметично завинчивающейся крышкой.

После сбора мочи контейнер плотно закрывают и маркируют.

6.3.3 Секрет простаты (предстательной железы)

Перед взятием секрета простаты рекомендуется половое воздержание в течение трех суток до исследования.

Перед взятием секрета простаты головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором.

Секрет простаты собирают после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Массаж проводит врач, посредством энергичного надавливающего движения от основания к верхушке железы.

Взятие выделившегося простатического секрета проводится после окончания массажа в одноразовую пробирку объёмом 2,0 мл или контейнер объёмом до 60 мл в виде свободно стекающей капли (0,15–1,0 мл).

После сбора материала ёмкость с секретом простаты плотно закрывают и маркируют.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на острый простатит выполнять массаж простаты категорически запрещено!!!

6.3.4 Эякулят

Перед взятием эякулята (семенной жидкости) рекомендуется половое воздержание в течение трех суток до исследования.

Перед сбором эякулята пациент мочится в туалете, полностью опорожняя мочевой пузырь.

После мочеиспускания пациент должен тщательно вымыть руки с мылом и провести туалет наружных половых органов с мылом и водой. Головку полового члена и крайнюю плоть необходимо высушить стерильной салфеткой.

Эякулят получают путем мастурбации. Взятие эякулята проводится в стерильный контейнер объёмом до 60 мл, снабжённый герметично завинчивающейся крышкой.

После сбора материала контейнер плотно закрывают и маркируют.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Условия транспортирования и хранения образцов биологического материала определяются инструкциями по применению рекомендуемых наборов/комплектов реагентов для выделения ДНК (7.1) или используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

Допускается хранение образцов при температуре от 2 °С до 8 °С не более 24 ч. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Допускается хранение замороженного материала при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение одного месяца (если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектам реагентов для выделения НК).

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

6.5 Подготовка биологического материала человека для выделения ДНК

Подготовка биологического материала (при необходимости) проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Для выделения ДНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения медицинского изделия и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-РАПИД.

Примечание – Не рекомендуется использовать комплект реагентов ПРОБА-РАПИД при выделении ДНК из соскобов из урогенитального тракта мужчин.

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора/комплекта реагентов.

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объёме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
2. При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы» следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, отрицательного контрольного образца (К–) и положительного контрольного образца (К+). При использовании набора реагентов в варианте исполнения «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке» промаркируйте дополнительно две пробирки «ФОН» для контроля фона флуоресценции.

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 24 постановки при условии вариабельного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке (вариант исполнения «Real-time») или не более чем на 10 постановок при условии вариабельного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца, 1 положительного контрольного образца и 2 пробирок «ФОН» (вариант исполнения «Flash») в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 4 образца. Для этого нужно:

- «ПЦР с детекцией в режиме реального времени» (Real-time): промаркировать 4 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «К–» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.
- «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке» (Flash): промаркировать 4 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «К–», одну пробирку для «К+», две пробирки «ФОН». Общее количество пробирок – 8.

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

7.2.3 Добавьте в каждую пробирку (кроме пробирок «ФОН»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы. Добавьте в пробирки, промаркированные «ФОН», по 10 мкл ПЦР-буфера (фон).

ВНИМАНИЕ! При использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q минеральное масло в пробирки не вносится!

7.2.4 Добавьте в каждую пробирку (при необходимости) по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте пробирки/стрипы.

7.2.5 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. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-РАПИД встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
2. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте при RCF(g) 12000–16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК 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 пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их, перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К–», «К+» и «ФОН», ДНК не вносится.

7.2.7 Внесите в пробирки, промаркированные «К–» и «ФОН», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

Примечание – Готовые нормировочные пробирки «ФОН» допускается использовать многократно при каждой детекции результатов ПЦР с реакционными пробирками из той же серии набора реагентов при условии использования того же набора/комплекта реагентов для выделения ДНК. Нормировочные пробирки следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение одного месяца. При проведении детекции пробирки должны иметь комнатную температуру (от 18 °С до 25 °С), для этого за один час до проведения детекции их необходимо достать из холодильника.

7.2.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.

7.2.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с (при использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).

7.2.10 Установите все пробирки/стрипы в программируемый термостат/амплификатор или в детектирующий амплификатор.

7.2.11 Для варианта исполнения «ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке»: Проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, в режиме, приведённом в таблице 2.

Таблица 2 – Программа амплификации для амплификаторов с активным регулированием (например, программируемый термостат Терцик). Время в скобках указано для амплификаторов без активного регулирования.

№ п.п.	Температура, °С	Время		Количество циклов
		мин	с	
1	94,0	1	00	1
2	94,0 67,0	0 0	05 (50) 15 (50)	5
3	94,0 67,0	0 0	01 (50) 15 (50)	30
4	10,0	…	…	Хранение

Примечание – Более подробное описание программирования и управления программируемым термостатом «Терцик» содержится в инструкции по эксплуатации прибора (см. «Руководство пользователя»).

7.2.12 Для варианта исполнения «ПЦР с детекцией в режиме реального времени»:

Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест[1]. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Для детектирующих амплификаторов Rotor-Gene Q, CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5:

Проведите ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведённым в таблицах 4, 5, 6 соответственно.

ВНИМАНИЕ!

1. Для детектирующих амплификаторов серии ДТ, CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5 возможно использование программ амплификации, общих для всех наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология» и ООО «ДНК-Технология ТС», предназначенных для выявления ДНК микроорганизмов (Приложение В, таблицы В.1–В.3). В этом случае при анализе результатов необходимо обращать внимание на значение Cp/Cq/Ct по каналу детекции Fam, положительный результат учитывается только для тех образцов, для которых значение Cp/Cq/Ct по каналу детекции Fam ≤35.

2. Для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q использование дополнительной программы амплификации не предусмотрено, интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 10.

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

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка S)

№ блока	Температура, °С	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	35		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q (фасовка S, пробирки)

№ / Cycling	Температура, °С / Temperature	Время, с / Hold Time, s	Количество циклов / Cycle Repeats
Cycling	80 deg	60	1 time
	94 deg	90	
Cycling 2	94 deg	30	5 times
	57 deg √	15	
Cycling 3	94 deg	10	45 times
	57 deg √	15	
√ – режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам детекции Green (Fam) и Yellow (Hex) при 57 °С			

Таблица 5 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (фасовки S, U)

№ блока (Step)	Температура, °С	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	0:15	40
4	64 √	0:20	
√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex) при 64 °С			

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С

Таблица 6 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5 (фасовки S, U)

Стадия	№ шага	Температура, °С	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	80	01:00	1
	2	94	01:30	1
Стадия ПЦР	1	94	0:20	40
	2	64 √	0:20	
√ – сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex)) включен				

7.3 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, ручное дозирование

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

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых амплификационных пробирок объёмом 0,2 мл для неизвестных образцов, для отрицательного контрольного образца «К–» и положительного контрольного образца «К+».

Примечание – Рекомендуется постановка не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

Пример:

Необходимо проанализировать 4 неизвестных образца. Для этого нужно промаркировать 4 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «К–» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.

7.3.2 Встряхните пробирку со смесью для амплификации на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.3 Внесите во все промаркированные пробирки (включая «К–» и «К+») по 6,0 мкл смеси для амплификации.

7.3.4 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТаq MAX на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТаq MAX необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.3.5 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq MAX. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:

- 6,0 х (N+1) мкл ПЦР-буфера,
- 0,3 х (N+1) мкл полимеразы ТехноТаq MAX,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К–», «К+».

Пример:

Необходимо проанализировать 4 неизвестных образца, «К–», «К+». Промаркированных пробирок – 6. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq MAX для 7 (6+1) пробирок, т.е. 42 мкл ПЦР-буфера + 2,1 мкл полимеразы ТехноТаq MAX.

7.3.6 Встряхните пробирку с приготовленной смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.3.7 Добавьте в пробирки со смесью для амплификации по 6,0 мкл смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ. Закройте пробирки.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ в пробирки со смесью для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить 7.3.8 – 7.3.13.

7.3.8 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. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-РАПИД встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
2. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте при RCF(g) 12000–16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК 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 пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Закрывайте пробирки плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.3.9 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 6,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К–» и «К+», ДНК не вносится.

7.3.10 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», 6,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см.7.1).

7.3.11 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», 6,0 мкл положительного контрольного образца.

7.3.12 Центрифугируйте все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с (при использовании для проведения ПЦР детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).

7.3.13 Установите все пробирки в детектирующий амплификатор и проведите ПЦР (7.3.14, 7.3.15).

7.3.14 Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест[1]. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 7.

7.3.15 Для детектирующих амплификаторов CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5 и Rotor-Gene Q:

Проведите ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 18 мкл, по программам амплификации, приведённым в таблицах 5, 6, 8 соответственно.

ВНИМАНИЕ!

1. Для детектирующих амплификаторов серии ДТ, CFX96, Applied Biosystems QuantStudio 5 возможно использование программ амплификации, общих для всех наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология» и ООО «ДНК-Технология ТС», предназначенных для выявления ДНК микроорганизмов (Приложение В, таблицы В.2–В.4). В этом случае при анализе результатов необходимо обращать внимание на значение Cp/Cq/Ct по каналу детекции Fam, положительный результат учитывается только для тех образцов, для которых значение Cp/Cq/Ct по каналу детекции Fam ≤35.

2. Для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q использование дополнительной программы амплификации не предусмотрено, интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 10.

[1] – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении Б) или предоставляется производителем набора реагентов

Таблица 7 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка U)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	35		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Таблица 8 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q (фасовка U)

№ / Cycling	Температура, °С / Temperature	Время, с / Hold Time, s	Количество циклов / Cycle Repeats
Cycling	80 deg	60	1 time
	94 deg	300	
Cycling 2	94 deg	30	5 times
	57 deg √	15	
Cycling 3	94 deg	10	45 times
	57 deg √	15	
√ – режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам детекции Green (Fam) и Yellow (Hex) при 57 °С			

7.4 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, с использованием дозирующего устройства ДТстрим (только для детектирующего амплификатора ДТпрайм в модификации «ДТпрайм *Х*»)

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать микропланшеты ПЦР 384 лунки, герметизируемые термопленкой.

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

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С

Примечание – Рекомендуется постановка не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

7.4.1 Встряхните пробирку со смесью для амплификации на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.4.2 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТаq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТаq МАХ необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.4.3 Следуя указаниям ПО дозирующего устройства ДТстрим, приготовьте в отдельной одноразовой пробирке смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq МАХ.

7.4.4 Встряхните пробирку с приготовленной смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.4.5 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. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-РАПИД встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
2. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте при RCF(g) 12000–16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК 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.

7.4.6 Установите пробирки со смесью для амплификации, со смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ, с препаратами ДНК, отрицательными контрольными образцами и положительными контрольными образцами, а также микропланшет для

ПЦР на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.

7.4.7 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.

7.4.8 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термопленкой согласно инструкции к прибору ДТпак.

7.4.9 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.

7.4.10 Установите микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.

7.4.11 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест[1]. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 7.

ВНИМАНИЕ! Возможно использование программы амплификации, общей для всех наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология» и ООО «ДНК-Технология ТС», предназначенных для выявления ДНК микроорганизмов (Приложение В, таблица В.4). В этом случае при анализе результатов необходимо обращать внимание на значение Ср по каналу детекции Fam, положительный результат учитывается только для тех образцов, для которых значение Ср по каналу детекции Fam ≤35.

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

8.1 Регистрация результатов амплификации с использованием ПЦР-детектора

После прохождения реакции амплификации поместите пробирки в ПЦР-детектор, оформите протокол и проведите регистрацию результатов в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора (пороговые значения для специфического продукта составляют 1,75–2,10, для внутреннего контроля – 2,50).

8.2 Регистрация результатов амплификации с использованием детектирующих амплификаторов

Регистрация сигнала флуоресценции на детектирующих амплификаторах серии ДТ, Rotor-Gene Q, CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5 проводится автоматически во время амплификации.

[1] – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении Б) или предоставляется производителем набора реагентов

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1 Учёт результатов амплификации осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с ПЦР-детектором или детектирующим амплификатором.

9.2 При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».

9.3 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 9 (для флуоресцентных детекторов серии ДЖИН и детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт», CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5) и таблицей 10 (для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q). Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 9 – Интерпретация результатов ПЦР для флуоресцентных детекторов серии ДЖИН и детектирующих амплификаторов серии ДТ, CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5

Flash	**Real-time**		**Интерпретация результата**[1]
Результат, полученный на флуоресцентном детекторе «ДЖИН» или «ДЖИН-4»	**Канал детекции Fam** (искомая ДНК), Cp/Cq/Ct	**Канал детекции Hex/Vic** (внутренний контроль), Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы			
«+»	**Указан**	Не учитывается	**Обнаружена ДНК *Gardnerella vaginalis* («+»)**
«–»	Не указан	**Указан**	Не обнаружена ДНК *Gardnerella vaginalis* («–»)
«нд»	Не указан	Не указан	Недостоверный результат («нд»)
Отрицательный контрольный образец			
«–»	Не указан	**Указан**	**Отрицательный результат** («–») Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец			
«+»	**Указан**	Не учитывается	**Положительный результат («+»)** Результаты постановки валидны

[1] – при использовании программ амплификации, общих для всех наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология» и ООО «ДНК-Технология ТС», предназначенных для выявления ДНК микроорганизмов (программы амплификации для фасовок S, U приведены в Приложении В), положительный результат учитывается только для тех образцов, для которых значение Cp/Cq/Ct по каналу детекции Fam ≤35

Таблица 10 – Интерпретация результатов ПЦР для детектирующего амплификатора Rotor-Gene Q

Канал детекции Green (искомая ДНК), Ct	**Канал детекции Yellow** (внутренний контроль), Ct	**Интерпретация результата**
Неизвестные образцы		
≤ 30	Не учитывается	**Обнаружена ДНК *Gardnerella vaginalis***
Не указан или > 30	**Указан**	Не обнаружена ДНК *Gardnerella vaginalis*
Не указан	Не указан	Недостоверный результат
Отрицательный контрольный образец		
Не указан	**Указан**	**Отрицательный результат** Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец		
≤ 30	Не учитывается	**Положительный результат** Результаты постановки валидны

9.4 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае необходимо повторно провести ПЦР, либо выделение ДНК и постановку ПЦР для этого образца, либо взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно).

9.5 При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

9.6 При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

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

10.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТаq MAX (фасовка U), в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

10.1.3 Допускается транспортирование полимеразы ТехноТаq MAX (фасовка U) в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.

10.1.4 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

10.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТаq MAX (фасовка U), следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

10.2.2 Полимеразу ТехноТаq MAX (фасовка U) следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

10.2.3 Смесь для амплификации и смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.

10.2.4 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТаq MAX (фасовка U), следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
- полимеразу ТехноТаq MAX (фасовка U) следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
- смесь для амплификации и смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.

10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

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

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

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

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

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

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

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

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

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

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

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

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

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

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

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

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

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

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

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

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

Место производства:

- ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4;
- ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская область, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.

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

Приложение А

Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» при использовании набора реагентов ГАРД-ГЕН в фасовке S

1) Количество пробирок в тесте – 1;
2) Объём реакционной смеси – 35 мкл;
3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °С	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	35		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
Gardnerella vaginalis	ВК	–	–	–

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С

Приложение Б

Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» при использовании набора реагентов ГАРД-ГЕН в фасовке U

1) Количество пробирок в тесте – 1;
2) Объём реакционной смеси – 18 мкл;
3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	35		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
Gardnerella vaginalis	ВК	–	–	–

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С

Приложение В

Программы амплификации, допустимые при использовании набора реагентов ГАРД-ГЕН в фасовках S, U

ВНИМАНИЕ! При использовании данных программ **положительный результат** учитывается только для тех образцов, для которых **значение Ср/Cq/Ct по каналу детекции Fam ≤35.**

Таблица В.1 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка S)

№ блока	Температура, °С	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	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Таблица В.2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (фасовки S, U)

№ блока (Step)	Температура, °С	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	0:15	50
4	64 √	0:20	
√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex) при 64 °С			

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С

Таблица В.3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5 (фасовки S, U)

Стадия	№ шага	Температура, °С	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	80	01:00	1
	2	94	01:30	1
Стадия ПЦР	1	94	0:20	50
	2	64 √	0:20	
√ – сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex)) включен				

Таблица В.4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка U)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	10[1]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Номер 443-5

2026-03-18

[1] – допускается хранение при температуре 25 °С