



859 2025-10-16



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления и типирования ДНК
вирусов папилломы человека 16 и 18 типов
методом ПЦР в режиме реального времени

HPV 16/18 Комплекс

Регистрационный номер
Г004-00110-00/03380157 от 13.10.2025

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав набора реагентов.....	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	5
2.3	Принцип метода	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
3.1	Аналитическая специфичность	7
3.2	Интерферирующие вещества	7
3.3	Предел обнаружения	8
3.4	Диагностические характеристики.....	8
3.5	Воспроизводимость и повторяемость	8
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	9
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	11
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	13
6.1	Материал для исследования	13
6.2	Общие требования	13
6.3	Взятие материала на исследование	14
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала	14
6.5	Подготовка биологического материала человека для выделения ДНК	14
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	15
7.1	Выделение ДНК из биологического материала	15
7.2	Подготовка и проведение ПЦР	17
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	20
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	20
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	22
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	23
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	23
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	23
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	23
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	24
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	25
	Приложение А.....	26
	Приложение Б.....	27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
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
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКазаы	- рибонуклеазы

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления и типирования ДНК вирусов папилломы человека 16 и 18 типов методом ПЦР в режиме реального времени (HPV 16/18 Комплекс), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для одновременного выявления и типирования ДНК вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска 16-го и 18-го типов в биологическом материале человека (мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования: симптомы инфекционного заболевания мочеполовой системы.

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 клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

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

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

REF R1-P320-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем 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-P320-23/9, фасовка S, пробирки			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем 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

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 рассчитан на 96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов: в режиме реального времени; мультиплексный качественный анализ.

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

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 Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. «Горячий» старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифическое связывание праймеров с ДНК-мишенью при более низких температурах. Помимо этого, парафин обеспечивает запечатывание реакционной смеси и дополнительную защиту от контаминации продуктами амплификации.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических продуктов амплификации. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

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

В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации ДНК HPV18, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации ДНК HPV16, включена флуоресцентная метка Cy5. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Hex.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок и биоматериала, необходимого для проведения исследования, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex/Vic	Rox	Cy5	Cy5.5
HPV18	ВК	–	HPV16	–

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов HPV 16/18 Комплекс.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК HPV16 и/или HPV18, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительные результаты амплификации специфических продуктов (фрагменты геномов HPV16 и/или HPV18) по заявленным каналам детекции.

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК HPV16 и/или HPV18, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательные результаты амплификации специфических продуктов (фрагменты геномов HPV16 и/или HPV18) по заявленным каналам детекции и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex/Vic.

Наблюдалось отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждого компонента, входящего в состав набора реагентов, по отношению к другой мишени системы.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце ДНК *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus 2, Human herpesvirus 6, Human herpesvirus 8, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, Human papillomavirus (HPV) генотипы 6, 11, 26, 31, 33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82, а также ДНК человека в концентрации до $1,0 \times 10^8$ 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.

К ингибиторам ПЦР отнесены следующие вещества: гемоглобин и лекарственные препараты, присутствующие в образце ДНК в результате неполного удаления в процессе выделения ДНК из образца биоматериала, а также изопропиловый спирт и метилацетат, присутствующие в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на амплификацию лабораторных контрольных образцов и внутреннего контрольного образца составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца ДНК, изопропиловый спирт – 100 мкл/мл образца ДНК, метилацетат – 100 мкл/мл образца ДНК.

Для оценки возможной интерференции лекарственных препаратов были выбраны те, которые потенциально могут присутствовать в остаточных количествах в биологических образцах человека, взятых из соответствующих исследуемых биотопов (Мирамистин®, хлоргексидин биглюконат).

Для всех исследуемых лекарственных препаратов было показано отсутствие их влияния в концентрации до 10% в образце биоматериала.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения составляет 5 копий ДНК каждого микроорганизма на амплификационную пробирку. Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений лабораторного контрольного образца (ЛКО).

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации ДНК при использовании указанных наборов/комплектов реагентов для выделения НК и конечного объёма элюции (разведения) выделенной ДНК:

Биоматериал	Набор/комплект реагентов для выделения	Объём полученного препарата, мкл	Предел обнаружения, копий/мл образца
Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта в транспортной среде*	ПРОБА-НК	50	50
	ПРОБА-НК-ПЛЮС	300	300
	ПРОБА-ГС	100	100
	ПРОБА-ГС-ПЛЮС	300	300
	ПРОБА-МЧ-РАПИД	100	100
	ПРОБА-МЧ МАКС	100	100
	ПРОБА-ОПТИМА	400	400
	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	100	100
	ПРОБА-РАПИД	500	500
* – в качестве транспортной среды использовалась Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640			

3.4 Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Мазок эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (HPV 16)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)
Мазок эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (HPV 18)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)
Соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (HPV 16)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)
Соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (HPV 18)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)	100% (95% ДИ: 86,28% – 100%)
Итого	100% (95% ДИ: 97,09% – 100%)	100% (95% ДИ: 97,09% – 100%)

3.5 Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость составляет 100%.

Повторяемость составляет 100%.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

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

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

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

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

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

Выделение ДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Подготовку к 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 опасных компонентов	Указание на риски
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	–
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	–
Минеральное масло	Нет опасных веществ	–
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды

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 исключён.

Не использовать набор реагентов:

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

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	
	стрипы	пробирки
ПЦР-бокс	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени ¹	да	да
микроцентрифуга-вортекс ²	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да	нет
холодильник с морозильной камерой	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл	нет	да
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да	нет
дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объём жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да
наконечники одноразовые с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да
штатив для дозаторов	да	да
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	да	да
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости)	да	да
устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения 12М1 или 15М1, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим	да ³	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	да ³	нет
транспортная среда, рекомендуются: – Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019, ООО «ДНК Технологии ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640; – Транспортная среда для биопроб с муколитиком СТОР-М ⁴ по ТУ 21.20.23-102-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2019/9453, допускается использовать транспортные среды, зарегистрированные на территории РФ в установленном порядке		

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	
	стрипы	пробирки
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала, рекомендуются: – Комплект реагентов для выделения ДНК ПРОБА-РАПИД по ТУ 9398-015-46482062-2008, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2008/02939; – Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС по ТУ 9398-035-46482062-2009 в формах комплектации: комплект ПРОБА-НК, комплект ПРОБА-НК ПЛЮС, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867; – Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в формах комплектации: ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, 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; – Набор реагентов для выделения ДНК ПРОБА-МЧ МАКС по ТУ 21.20.23-106-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/14391; – Набор реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА-ОПТИМА) по ТУ 21.20.23-124-46482062-2021, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496; – Набор реагентов для выделения ДНК/РНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека (ПРОБА-МЧ-РАПИД II) по ТУ 21.20.23-136-46482062-2023, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2024/23205.		
Примечания к таблице: ¹ – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже ² – рекомендуется Встряхиватель лабораторный медицинский «ДТспин» по ТУ 32.50.50-003- 96301278-2024, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24070; ротор для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл входит в комплектацию ³ – в случае использования автоматизированного дозирования ⁴ – не рекомендуется для совместного применения с набором реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД II		

Набор реагентов применяется с детектирующими амплификаторами планшетного 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;
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Cy5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм II» по ТУ 26.51.53-001-96301278-2022 (модификация «ДТпрайм II *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24179, далее по тексту – «ДТпрайм II»;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228, далее по тексту – «ДТлайт»;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с модулем реакционным оптическим CFX96 (Optical Reaction Module CFX96), Био-Рад Лабораториз, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399, далее по тексту – CFX96;
- Амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.», Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446, далее по тексту – Applied Biosystems QuantStudio 5.

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 мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта.

6.2 Общие требования

- 6.2.1 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.
- 6.2.2 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.
- 6.2.3 При необходимости взятия мазков/соскобов из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.

6.2.4 На этапах подготовки биоматериала используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.2.5 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, с которой идёт работа (внесение образца/реактива, удаление надсадочной жидкости), и закрывайте её после этого. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.

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 подготовка образцов биологического материала (6.5).

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонды медицинские по ТУ 9436-002-98349125-2016 в вариантах исполнения: 1. Зонд тип А универсальный: – тип А1, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058).

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

Ограничение метода¹: местное применение лекарственных препаратов, использование лубрикантов, УЗИ вагинальным датчиком, кольпоскопия – менее чем за 24 часа до исследования.

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

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.

6.5 Подготовка биологического материала человека для исследования

Подготовка мазков/соскобов эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (при необходимости) проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1) или используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

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

Соскобы, взятые в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии

При фиксации в некоторых спиртовых транспортных средах для жидкостной цитологии, например, в консервирующей жидкости BD SurePath (Becton Dickinson, США, РУ № ФСЗ 2010/06235) происходит сшивание нуклеиновых кислот с белками, поэтому необходима предварительная обработка образцов с целью освобождения ДНК из белок-ассоциированных комплексов и лизиса клеток.

Соскобы, взятые в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии BD SurePath (Becton Dickinson, США, РУ № ФСЗ 2010/06235), необходимо предобработать с использованием Набора реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ №РЗН 2021/14384 в соответствии с инструкцией по применению.

Транспортно-фиксирующие среды PreservCyt ThinPrep (Hologic Inc, США, РУ № ФСЗ 2012/11750) или Cellprep AUTO (Biodyne Co. Ltd., Корея, РУ № РЗН 2020/11462) не требуют предварительной обработки образцов с использованием набора реагентов ПРОБА-ПК.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Для выделения ДНК из мазков/соскобов эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ МАКС, ПРОБА-МЧ-РАПИД II.

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

Таблица 2 – Наборы/комплекты реагентов, рекомендованные для выделения ДНК для дальнейшего исследования с использованием набора реагентов HPV 16/18 Комплекс

Набор/комплект реагентов, РУ	Биоматериал	Минимальное количество элюата, мкл
Комплект реагентов ПРОБА-НК, РУ № ФСР 2010/08867	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	50
	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (сокращённая методика в соответствии с Приложением Б)	
Комплект реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС, РУ № ФСР 2010/08867	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	300
	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта (сокращённая методика в соответствии с Приложением Б)	
Комплект реагентов ПРОБА-ГС, РУ № ФСР 2010/08696	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	100
Комплект реагентов ПРОБА-ГС-ПЛЮС, РУ № ФСР 2010/08696	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	300
Комплект реагентов ПРОБА-РАПИД, РУ № ФСР 2008/02939	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	500
Набор реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД, РУ № РЗН 2017/5753	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	100
Набор реагентов ПРОБА-ОПТИМА, РУ № РЗН 2022/17496	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	400
Набор реагентов ПРОБА-МЧ МАКС РУ № РЗН 2021/14391	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	100
Набор реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД II, РУ № РЗН 2024/23205	Мазок/соскоб эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта	100

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

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!
3. Для набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы» предусмотрена возможность автоматизированного дозирования с использованием дозирующего устройства ДТстрим согласно руководству по эксплуатации.

7.2.1 Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 24 постановки при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в одной постановке.

Пример:

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

- 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 во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.
- 7.2.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте пробирки/стрипы крышками.
- 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. 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, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ГС, 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 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. Необходимо закрывать 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–» и «К+», ДНК не вносится.

7.2.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

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.

7.2.10 Установите все пробирки/стрипы в детектирующий амплификатор.

7.2.11 Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

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 пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

7.2.12 Для детектирующих амплификаторов CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5:

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

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», «ДТпрайм II», «ДТлайт»

№ 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	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96

№ блока (Step)	Температура, °C	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	00:15	50
4	64 √	00:20	
√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex, Cy5) при 64 °C			

Таблица 5 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5

Стадия	№ шага	Температура, °C	Время мин: сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	80	01:00	1
	2	94	01:30	1
Стадия ПЦР	1	94	00:20	50
	2	64 √	00:20	
√ – сбор данных для флуорофоров (Fam, Vic (Hex), Cy5) включен				

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1 Учёт результатов амплификации осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

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

9.3 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 6. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 6 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq/Ct	Hex/Vic, Cp/Cq/Ct	Cy5, Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы			
Указан	Не учитывается	Не указан	Обнаружена ДНК HPV18
Не указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК HPV16
Указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК HPV18, обнаружена ДНК HPV16
Не указан	Указан	Не указан	Не обнаружена ДНК выявляемых микроорганизмов
Не указан	Не указан	Не указан	Недостоверный результат
Отрицательный контрольный образец			
Не указан	Указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец			
Указан	Указан	Указан	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 требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно).

9.5 Если для биологического образца получены значения $C_p/C_q/C_t < 24$ по каналам детекции Fam или Cy5, то это свидетельствует о высокой первоначальной концентрации ДНК соответствующего микроорганизма. В данном случае при микст-инфицировании возможно получение ложноотрицательного результата для микроорганизма, ДНК которого присутствует в низкой концентрации. Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ПЦР выделенного препарата ДНК с использованием Набора реагентов для выявления ДНК вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска методом полимеразной цепной реакции (ВПЧ-ГЕН-16/18), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2008/03845 в одном из вариантов исполнения: Вирус папилломы человека 16 типа (HPV 16) или Вирус папилломы человека 18 типа (HPV 18).

9.6 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.

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

10.2 Хранение

- 10.2.1 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. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищённом от света месте.
- 10.2.2 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 следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - смесь для амплификации, 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 <i>in vitro</i>		Номер по каталогу
	Температурный диапазон		Изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Не допускать воздействия солнечного света
	Использовать до		Нестерильно
	Код партии (серии)		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Дата изготовления		

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 (ЕСКД). Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство (СРПП). 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 ИСО 15190-2023 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 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования

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.о. Серпухов, 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», «ДТпрайм II», «ДТлайт»
при использовании набора реагентов HPV 16/18 Комплекс**

- 1) Указать количество пробирок в тесте – 1;
- 2) Указать объем 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	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
HPV18	БК	–	HPV16	–

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

Приложение Б**Сокращённая методика выделения нуклеиновых кислот из исследуемого материала (мазки/соскобы эпителия со слизистой оболочки урогенитального тракта) с использованием комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС****ВНИМАНИЕ!**

1. Перед началом работы необходимо:
 - включить термостат для прогрева до 65 °С;
 - достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флакон с лизирующим раствором на термостате, предварительно прогревом до 65 °С, до полного растворения осадка. Затем следует перемешать раствор переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Перед использованием охладите раствор до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С). Осадок также можно растворить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение приблизительно 12 часов.
2. При прогревании пробирок с образцами возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).
1. Промаркируйте одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл для отрицательного контрольного образца (К-).
2. Добавьте в каждую промаркированную пробирку с подготовленным для исследования материалом в объёме 100 мкл (см. 6.5) и в пробирку, промаркированную «К-», по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
3. Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл отрицательного контрольного образца.
4. Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
5. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
6. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
7. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
8. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин.
9. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
10. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, плотно закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.

11. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 – 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
12. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
13. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
14. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 – 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
15. Не задевая осадок, удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки). Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объёмом не более 20–30 мкл.
16. Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
17. Добавьте к осадку соответствующее количество буфера для растворения согласно инструкции по применению комплекта реагентов ПРОБА-НК или ПРОБА-НК-ПЛЮС и осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
18. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
19. Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 30 с.

Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

Препарат ДНК можно хранить при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более одного месяца или при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более одного года.

Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР после хранения необходимо разморозить препарат ДНК и отрицательный контрольный образец при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С, затем 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.

ВНИМАНИЕ! Для препарата ДНК допускается только однократное размораживание!

Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.