


## Amplitech STIC (R)

Набор реагентов для определения основных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов урогенитального тракта женщин методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech STIC (R)) по ТУ 21.20.23-019-19926214-2023

### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**IVD**

**REF** P013-0

 24

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ.....	5
1.1 Область применения.....	5
2 СОСТАВ.....	5
3 ПРИНЦИП МЕТОДА.....	6
3.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК U.....	7
4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	7
5 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	8
6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ.....	9
7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	10
7.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции.....	10
7.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции.....	12
8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	13
9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ.....	17
10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	18
10.1 Контроли, используемые в процессе исследования.....	18
10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации.....	19
10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований.....	19
11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	19
11.1 Предел обнаружения.....	19
11.2 Диапазон измерения и предел измерения.....	20
11.3 Аналитическая специфичность.....	20
11.4 Прецизионность измерения.....	21
11.5 Правильность измерения.....	21
11.6 Диагностические характеристики.....	21
12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.....	22
12.1 Срок годности.....	22
12.2 Хранение.....	22
12.3 Транспортирование.....	22
12.4 Эксплуатация.....	23
13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	23
14 БИБЛИОГРАФИЯ.....	23
15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	23
16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	24
17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА.....	24
18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	24

## ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 31.01.23 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для определения основных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов урогенитального тракта женщин методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech STIC (R)) по ТУ 21.20.23-019-19926214-2023» (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech STIC (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

2. Набор реагентов «Amplitech STIC (R)» позволяет выявлять основные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы урогенитального тракта женщин.

Микроорганизмы *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, а также вирусы HSV1, HSV2, CMV являются основными облигатными возбудителями инфекционно-воспалительных заболеваний урогенитального тракта. Для данных микроорганизмов отсутствуют специфические клинические признаки, на основании которых можно установить этиологию заболевания. ПЦР в реальном времени обладает более высокой чувствительностью, специфичностью и объективностью полученных результатов. Набор реагентов «Amplitech STIC (R)» позволяет выявлять, дифференцировать и количественно измерять ДНК указанных микроорганизмов в рамках одной реакции.

Заболевания, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, могут протекать как с клиническими проявлениями, так и бессимптомно. Бессимптомное течение заболевания затрудняет своевременное выявление возможных проблем и часто приводит к позднему обращению больных к врачу. В некоторых случаях условно-патогенные микроорганизмы могут быть причиной серьёзных инфекционно-воспалительных заболеваний органов малого таза, нарушений репродуктивной функции женщин, пре и постнатальных осложнений, а также приводить к увеличению рисков заражения ВИЧ-инфекцией и инфекциями, передаваемыми половым путём.

Условно-патогенные микоплазмы (*Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*) и дрожжеподобные грибы рода *Candida* могут встречаться в урогенитальном тракте в условиях нормы. Для данных микроорганизмов качественный результат выявления не является информативным. Набор реагентов «Amplitech STIC (R)» позволяет выявлять условно-патогенные микоплазмы и грибы *Candida* spp. в количественном формате с определением превышения порогов клинической значимости их концентраций.

Для представителей условно-патогенной микрофлоры *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Mobiluncus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacterium* spp. отсутствуют пороги клинической значимости концентрации ДНК. Для данных микроорганизмов клиническое значение имеют не абсолютные показатели концентрации ДНК, а соотношение их численности в биоценозе

относительно представителей нормофлоры. В наборе реагентов «Amplitech STIC (R)» в качестве нормофлоры оценивается концентрация ДНК лактобактерий (*Lactobacillus* spp.), типичных для урогенитального тракта женщин. В качестве эндогенного внутреннего контроля дополнительно оценивается концентрация ДНК общей бактериальной массы.

Определение соотношения логарифмов концентрации *Lactobacillus* spp. и условно-патогенной микрофлоры позволяет выявлять дисбиотические состояния во влагалищном биотопе. Доминирование *Gardnerella vaginalis*/ *Atopobium vaginae*/ *Prevotella bivia*/ *Mobiluncus* spp. в биотопе может свидетельствовать о развитии бактериального вагиноза. Преобладание ДНК *Staphylococcus* spp./ *Streptococcus* spp./ *Enterobacterium* spp. является признаком аэробного вагинита.

## 1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения ДНК патогенных микроорганизмов *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, HSV2, CMV, а также количественного определения ДНК условно-патогенных микроорганизмов *Candida* spp., *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Mobiluncus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacterium* spp. и ДНК представителей нормофлоры *Lactobacillus* spp. в биологическом материале человека, полученном в рамках профилактического скрининга, диспансерного мониторинга воспалительных заболеваний мочеполовой системы женщин. Определение ДНК выявляемых микроорганизмов с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Материалом для проведения ПЦР-исследования служат образцы ДНК, экстрагированной из:

- соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала;
- мазков со слизистой оболочки влагалища.

### 1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* воспалительных заболеваний и дисбиотических состояний мочеполовой системы женщин, вызываемых следующими микроорганизмами: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *T. vaginalis*, HSV1, HSV2, CMV, *Candida* spp., *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *A. vaginae*, *P. bivia*, *Mobiluncus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacterium* spp., а также для количественного определения *Lactobacillus* spp.

Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования микроорганизмами, перечисленными выше, и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациента. Отрицательные результаты исследования должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

## 2 СОСТАВ

Состав набора<sup>1</sup> указан в таблице 1 и 2.

Таблица 1

Состав набора

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет с реагентами STIC (R)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет с реагентами, заклеенный защитной плёнкой

<sup>1</sup> Набор упакован в коробку из картона.

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Плёнки для планшета	–	2 шт.	Клейкие плёнки
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК U (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами ДНК выявляемых микроорганизмов и ДНК внутренних контролей)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: <a href="http://www.amplitech.ru/resources/">http://www.amplitech.ru/resources/</a>
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде <sup>2</sup> по адресу: <a href="http://www.amplitech.ru/quality/">http://www.amplitech.ru/quality/</a>
Программное обеспечение «Amplitech STIC soft» в. 1.0	–	1 шт.	В электронном виде на USB-флеш-накопителе и по адресу:
Руководство оператора	–	1 шт.	<a href="http://www.amplitech.ru/resources/">http://www.amplitech.ru/resources/</a>

Таблица 2

### Расположение реагентов в планшете

Ряды пробирок	Реагент	Внешний вид
A, E	Смесь STIC (R)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок
B, F	Смесь STIC (R)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок
C, G	Смесь STIC (R)-3 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок
D, H	Смесь STIC (R)-4 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок

Набор рассчитан на проведение исследования 24 образцов, включая контроли.

### 3 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов ПЦР и отдельное выявление мишеней обеспечивается применением в четырёх реакционных смесях для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по пяти различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

<sup>2</sup> В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

## Каналы детекции мишеней

FAM	R6G <sup>3</sup>	ROX	Cy5	Cy5.5
<b>Смесь STIC (R)-1</b>				
<i>C. trachomatis</i> ( <i>DnaB-like helicase</i> ген) <sup>4</sup>	<i>N. gonorrhoeae</i> ( <i>DCMB</i> ген)	<i>M. genitalium</i> ( <i>pdhD</i> ген)	Экзогенный ВК (искусственно синтезированная последовательность)	<i>T. vaginalis</i> ( <i>G3 hypothetical protein</i> ген)
<b>Смесь STIC (R)-2</b>				
<i>U. parvum</i> ( <i>UreC</i> ген)	<i>U. urealyticum</i> ( <i>UreC</i> ген)	<i>M. hominis</i> (16S рРНК)	<i>Staphylococcus</i> spp. (16S рРНК)	Эндогенный ВК (участок ДНК β- глобинового гена человека)
<b>Смесь STIC (R)-3</b>				
HSV2 (гликопротеин В)	HSV1 (гликопротеин В)	CMV (ген ДНК- полимеразы)	Общая бакте- риальная масса (16S рРНК)	<i>Candida</i> spp. (25S рРНК)
<b>Смесь STIC (R)-4</b>				
<i>G. vaginalis</i> <i>A. vaginae</i> <i>P. bivia</i> <i>Mobiluncus</i> spp. (23S рРНК)	<i>Lactobacillus</i> spp. (Нормофлора) (23S рРНК)	<i>Streptococcus</i> spp. (16S рРНК)	<i>Enterobacterium</i> spp. (16S рРНК)	–

Линейная зависимость между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (порогового цикла, Ct) позволяет определять концентрацию ДНК выявляемых мишеней в образце относительно положительного контроля ПК U (образца с известной концентрацией ДНК-мишеней), который проходит этап экстракции ДНК и ПЦР одновременно с исследуемыми образцами. Определение концентрации ДНК производится в соответствии с заданными значениями концентраций ПК U и полученными значениями Ct для ПК U и исследуемых образцов.

### 3.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК U

Концентрация клонированных фрагментов ДНК всех выявляемых микроорганизмов в ПК U составляет  $5 \lg \pm 0,5 \lg$  копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

## 4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 4.

<sup>3</sup> Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

<sup>4</sup> В скобках указана область амплификации мишени.

**Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором**

<b>Необходимое оборудование и материалы в случае</b>	
<b>автоматизированной подготовки к проведению ПЦР</b>	<b>ручной подготовки к проведению ПЦР</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» («Амплитек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981);</li> <li>• программируемый усилитель с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСЗ 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446));</li> <li>• холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С;</li> <li>• ёмкость для сброса использованных материалов;</li> <li>• перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ПЦР-бокс;</li> <li>• центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518);</li> <li>• дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 20 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681);</li> <li>• штатив для ПЦР-планшетов (РУ № ФСЗ 2011/10287);</li> <li>• программируемый усилитель с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСЗ 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446));</li> <li>• холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С;</li> <li>• наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 20 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз;</li> <li>• ёмкость для сброса использованных материалов;</li> <li>• перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.</li> </ul>

**5 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2б.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21 (раздел IV).

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Утилизировать реагенты и плёнки для планшета (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и



применения), USB-флеш-накопитель в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Не открывать пробирки с продуктами амплификации в процессе их сбора и утилизации.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора, инструкцию по применению, краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Утилизировать биологический материал, а также расходные материалы и инструменты, загрязнённые биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Б.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 1 и 2.

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

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром.

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

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

Реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

## **6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ**

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

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

- требованиями, перечисленными в таблице 5.

Таблица 5

### Требования к взятию исследуемого материала

<b>Взятие мазков со слизистой оболочки влагалища</b>
Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А5 универсальный» или «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).
<b>Взятие соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала</b>
Взятие материала провести с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощётки (например, «Зонд тип F3 комбинированный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) или стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

**ВНИМАНИЕ!** Для того, чтобы минимизировать вероятность получения невалидных результатов вследствие недостаточного количества бактериальной массы, рекомендуется помещать в одну пробирку соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и мазки со слизистой оболочки влагалища.

Транспортирование и хранение исследуемого материала проводится согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание материала.

## 7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 7.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции

**ВНИМАНИЕ!** Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

Экстракцию ДНК из исследуемого материала и контролей, а также внесение образцов экстрагированной ДНК в пробирки с реакционными ПЦР-смесями провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции ДНК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «ДНК-100 (R)» (ООО «Амплитек»).

7.1.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ОК и ПК U и осадить капли на вортексе.

7.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-100 (R)» и внести в него исследуемые образцы и контроли согласно инструкции по его применению.

**ВНИМАНИЕ!** Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться

постановкой контролей ОК и ПК U не менее чем в одном повторе.

7.1.3 Установить на рабочий стол автоматической станции картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, а также расходные материалы, входящие в состав набора «ДНК-100 (R)», согласно руководству по эксплуатации станции.

7.1.4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями STIC (R)-1, STIC (R)-2, STIC (R)-3, STIC (R)-4, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

Ряд	Вид смеси	Столбцы											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	STIC (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B	STIC (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	STIC (R)-3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
D	STIC (R)-4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	STIC (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
F	STIC (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	STIC (R)-3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
H	STIC (R)-4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Рисунок 1 – Схема планшета с реагентами

7.1.5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки необходимо использовать реагенты в течение 24 ч.

7.1.6 Установить отрезанные пробирки со Смесями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.

**ВНИМАНИЕ!** Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

7.1.7 Запустить выполнение следующих протоколов согласно руководству по эксплуатации станции «Amplitech E1»:

а) протокола экстракции ДНК с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «ДНК-100 (R)»;

Примечание – В протоколе указать объём элюции 100 мкл. В случае одновременного запуска протоколов экстракции и подготовки к проведению ПЦР объём элюции не требует ручного ввода, так как уже включён в протокол подготовки к проведению ПЦР.

б) протокола подготовки к проведению ПЦР с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «Amplitech STIC (R)».

7.1.8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech STIC (R)». Элюат,

внесённый в пробирки, содержит полученную в процессе экстракции ДНК.

**ВНИМАНИЕ!** Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

7.1.9 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 6.

Таблица 6

**Программа ПЦР и детекции при подготовке к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1»**

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	2 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G <sup>5</sup> , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) При программировании амплификатора указать объем реакции: 25 мкл.

2) При одновременном поведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °С – 15 мин» для экономии времени.

7.1.10 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

**7.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции**

7.2.1 Провести экстракцию ДНК (с применением автоматической или ручной методики) из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «ДНК-100 (R)» (ООО «Ампитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объеме 150 мкл.

**ВНИМАНИЕ!** Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК U не менее чем в одном повторе. Перед использованием контролей перемешать их и осадить капли на вортексе.

7.2.2 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями STIC (R)-1, STIC (R)-2, STIC (R)-3, STIC (R)-4, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

7.2.3 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки необходимо использовать реагенты в течение 24 ч.

7.2.4 Для удобства внесения образцов ДНК рекомендуется установить

<sup>5</sup> Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

отрезанные пробирки в штатив для ПЦР-планшетов.

7.2.5 Внести в подготовленные пробирки по 20 мкл образцов ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК U).

**ВНИМАНИЕ!** Каждый образец ДНК вносится в четыре пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (STIC (R)-1, STIC (R)-2, STIC (R)-3, STIC (R)-4).

**ВНИМАНИЕ!** При внесении ДНК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

7.2.6 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха.

7.2.7 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech STIC (R)».

**ВНИМАНИЕ!** Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

7.2.8 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 7.

Таблица 7

#### Программа ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ПЦР

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G <sup>6</sup> , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.

2) При одновременном поведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °С – 15 мин» для экономии времени.

7.2.9 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

## 8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учёт и интерпретация результатов осуществляется в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения «Amplitech STIC soft». Порядок работы с программным обеспечением описан в руководстве оператора по его применению.

ПО «Amplitech STIC soft» автоматически формирует бланк с результатами, состоящий из трёх частей.

**Первая часть бланка** представляет собой таблицу с качественными и количественными результатами для исследуемого образца (см. таблицу 8).

<sup>6</sup> Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

## Первая часть бланка с результатами, формируемая ПО «Amplitech STIC soft»

Наименование исследования	Результат, ГЭ/мл	Референсное значение
<b>Выявление и количественное определение ДНК патогенных микроорганизмов</b>		
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
HSV2	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
HSV1	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
CMV	Не выявлена/ Концентрация ДНК	Не выявлено
<b>Количественное определение ДНК условно-патогенных микоплазм</b>		
<i>Ureaplasma parvum</i>	Концентрация ДНК	Менее $1 \times 10^4$
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Концентрация ДНК	Менее $1 \times 10^4$
<i>Mycoplasma hominis</i>	Концентрация ДНК	Менее $1 \times 10^4$
<b>Количественное определение ДНК условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с аэробным вагинитом</b>		
<i>Staphylococcus spp.</i>	Концентрация ДНК	Менее <i>Lactobacillus spp.</i>
<i>Streptococcus spp.</i>	Концентрация ДНК	Менее <i>Lactobacillus spp.</i>
<i>Enterobacterium spp.</i>	Концентрация ДНК	Менее <i>Lactobacillus spp.</i>
<b>Количественное определение ДНК условно-патогенных дрожжеподобных грибов</b>		
<i>Candida spp.</i>	Концентрация ДНК	Менее $1 \times 10^2$
<b>Количественное определение ДНК условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом</b>		
<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Atopobium vaginae</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Mobiluncus spp.</i>	Концентрация ДНК	Менее <i>Lactobacillus spp.</i>
<b>Количественное определение ДНК микроорганизмов Нормофлоры</b>		
<i>Lactobacillus spp.</i>	Концентрация ДНК	Более $1 \times 10^5$

В столбце «Результат, ГЭ/мл» для патогенных микроорганизмов выводится результат «ДНК выявлена» или концентрация ДНК микроорганизма. Для условно-патогенных микроорганизмов и *Lactobacillus spp.* (нормофлоры) в данном столбце отображается количественный результат. ПО «Amplitech STIC soft» выдаёт рассчитанные значения концентрации ДНК выявляемых микроорганизмов в виде количества геномных эквивалентов генетического материала микроорганизмов в 1 мл транспортной среды, содержащей исследуемый образец (ГЭ/мл).

В случае если концентрация выявляемого микроорганизма находится вне пределов диапазона измерения набора, результат отображается в соответствии с таблицей 9.

**Выдача в ПО количественных результатов вне диапазона измерения набора**

Микроорганизм	Менее нижней границы диапазона измерения, ГЭ/мл	Более верхней границы диапазона измерения, ГЭ/мл
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Менее $4 \times 10^2$	Более $1 \times 10^8$
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Менее $1,6 \times 10^3$	Более $1 \times 10^8$
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Менее $1,6 \times 10^3$	Более $1 \times 10^8$
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Менее 1,5	Более $1 \times 10^6$
HSV1, HSV2, CMV	Менее $4 \times 10^3$	Более $5 \times 10^8$
<i>Ureaplasma parvum</i>	Менее $3 \times 10^3$	Более $5 \times 10^8$
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Менее $3 \times 10^3$	Более $5 \times 10^8$
<i>Mycoplasma hominis</i>	Менее $1,5 \times 10^3$	Более $2,5 \times 10^8$
<i>Candida</i> spp.	Менее 40	Более $5 \times 10^6$
<i>Lactobacillus</i> spp.	Менее $1 \times 10^3$	Более $1 \times 10^{10}$
<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Atopobium vaginalae</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Mobiluncus</i> spp.	Менее $5 \times 10^2$	Более $2,5 \times 10^{10}$
<i>Streptococcus</i> spp.	Менее $3,4 \times 10^3$	Более $8,3 \times 10^9$
<i>Enterobacterium</i> spp.	Менее $2,8 \times 10^3$	Более $7,1 \times 10^9$
<i>Staphylococcus</i> spp.	Менее $1,7 \times 10^3$	Более $8,3 \times 10^9$

**Во второй части бланка** приводится комплексное заключение, состоящее из четырёх предложений:

1) В первом предложении указывается информация об облигатных патогенах (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, HSV2, CMV), например: «ДНК патогенных микроорганизмов не выявлена.» или «Выявлена ДНК патогенных микроорганизмов – xxxxxx.»

2) Во втором предложении указывается информация об условно-патогенных микоплазмах в концентрации ДНК выше клинической значимости, например: «Клинически значимая концентрация ДНК условно-патогенных микоплазм не выявлена.» или «Выявлена клинически значимая концентрация ДНК xxxxxx.»

3) В третьем предложении указывается информация о выявлении ДНК дрожжеподобных грибов в концентрации выше клинической значимости, например: «Клинически значимая концентрация ДНК дрожжеподобных грибов не выявлена.» или «Выявлена клинически значимая концентрация ДНК дрожжеподобных грибов *Candida* spp.»

4) В четвёртом предложении выдаётся заключение о наличии или отсутствии дисбиотических состояний. Данное заключение формируется на основании оценки соотношения количества ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом, аэробным вагинитом и нормофлорой. Возможны следующие варианты заключения:

- «Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом.»;
- «Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с аэробным вагинитом.»;

- «Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом и аэробным вагинитом.»;
- «Доля ДНК лактобактерий снижена и соответствует дисбиозу неуточненной этиологии.»;
- «Выявлен умеренный дисбиоз со снижением ДНК микроорганизмов нормофлоры.»;
- «Дисбиоз не выявлен, преобладает ДНК микроорганизмов нормофлоры.».

Пример комплексного заключения в бланке с результатами:

«Выявлена ДНК патогенных микроорганизмов - *Neisseria gonorrhoeae*, HSV1.

Выявлена клинически значимая концентрация ДНК *Ureaplasma urealyticum*.

Клинически значимая концентрация ДНК дрожжеподобных грибов не выявлена.

Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом.».

**В третьей части бланка** размещается лепестковая диаграмма (см. пример на рисунке 2), которая предназначена для визуализации соотношения ДНК выявленных микроорганизмов, ассоциированных с нормофлорой, бактериальным вагинозом и аэробным вагинитом.

Диаграмма количественного соотношения ДНК микроорганизмов, ассоциированных с нормофлорой, бактериальным вагинозом и аэробным вагинитом, Lg(ГЭ / мл)

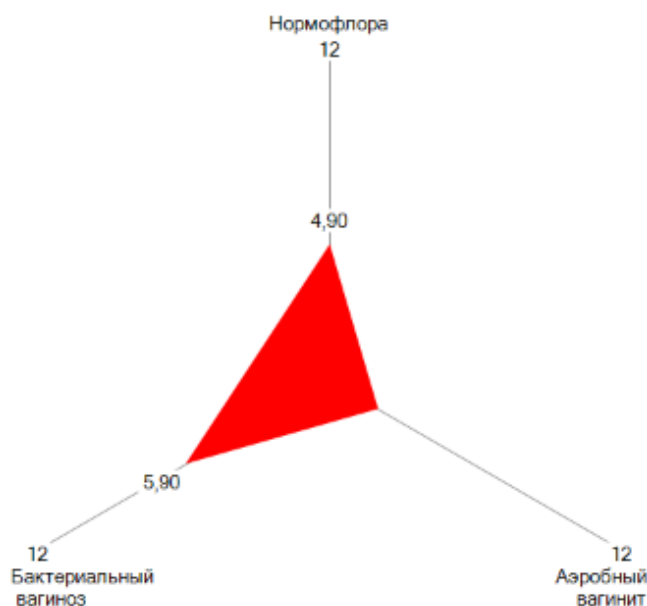


Рисунок 2 – Пример диаграммы в бланке с результатами

Диаграмма состоит из трёх осей. Цвет получившейся фигуры выбирается в соответствии с комплексным заключением (см. таблицу 10).

Таблица 10

**Цвет диаграммы в зависимости от комплексного заключения**

Заключение	Цвет фигуры
Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом.	



Заключение	Цвет фигуры
Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с аэробным вагинитом.	
Выявлен дисбиоз с преобладанием ДНК микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом и аэробным вагинитом.	
Доля ДНК лактобактерий снижена и соответствует дисбиозу неуточненной этиологии.	
Выявлен умеренный дисбиоз со снижением ДНК микроорганизмов нормофлоры.	
Дисбиоз не выявлен, преобладает ДНК микроорганизмов нормофлоры.	

## 9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, выдаваемых в ПО для исследуемых образцов и контролей, указаны в таблице 11.

Таблица 11

### Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка, выдаваемая в ПО	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Невалидный ПК U	Невалидный результат прохождения ПК вследствие некорректного проведения экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Контаминация ОК	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Невалидный ОК	Невалидный результат прохождения экзогенного ВК в образце ОК. Некорректное проведение экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ПК U	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО.	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ОК	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО.	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Невалидный	Невалидный результат прохождения экзогенного ВК в исследуемом образце, либо суммарная концентрация ДНК микроорганизмов, выявленных на Смеси STIC (R)-4, менее граничного значения. Некорректное проведение экстракции ДНК и/или наличие в образце ингибиторов ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.
Недостаточное количество биоматериала	Невалидный результат прохождения эндогенного ВК в исследуемом образце. Нарушения при взятии и/или хранении биоматериала.	Рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.
Недостаточное количество бактерий	Сниженное количество ДНК бактерий в исследуемом образце. Нарушения при взятии и/или хранении биоматериала.	Рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.

Если для исследуемого образца/контролей определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъёма (график представляет собой приблизительно прямую линию), необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца или, в случае некорректного вида графика для контроля, амплификацию и детекцию для всех исследуемых образцов и контролей.

## **10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

### **10.1 Контроли, используемые в процессе исследования**

#### **10.1.1 Отрицательный и положительный контроли**

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК U для контроля корректного прохождения исследования, а также для количественного определения ДНК выявляемых с помощью набора микроорганизмов и ДНК  $\beta$ -глобинового гена человека в биологическом материале.

#### **10.1.2 Внутренний контроль**

Для контроля качества экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации используются:

- экзогенный ВК, который добавляется на этапе экстракции ДНК в каждый исследуемый образец и контроли и амплифицируется с помощью Смеси STIC (R)-1;
- эндогенный ВК (участок ДНК  $\beta$ -глобинового гена человека), который присутствует в каждом исследуемом биологическом образце и ПК U и амплифицируется с помощью Смеси STIC (R)-2;
- ДНК бактерий (общая бактериальная масса), которая присутствует в каждом исследуемом биологическом образце и ПК U и амплифицируется с помощью Смеси STIC (R)-3;
- суммарная концентрация ДНК микроорганизмов, выявляемых с помощью Смеси STIC (R)-4.

Невалидный результат амплификации для экзогенного ВК свидетельствует о присутствии ингибиторов ПЦР в образце и/или некорректном проведении экстракции ДНК. Невалидный результат амплификации для эндогенного ВК свидетельствует о плохом качестве взятия и/или хранения биоматериала и/или некорректном проведении экстракции ДНК. Невалидный результат амплификации ДНК бактерий может говорить о снижении бактериальной обсеменённости в исследуемом образце и/или некорректном проведении экстракции и/или амплификации ДНК. Невалидный результат для Смеси STIC (R)-4 может говорить о некорректном проведении экстракции и/или амплификации ДНК.

## 10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

## 10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований

Рекомендуется проводить контроль качества выполнения исследований с использованием панелей контрольных образцов, предназначенных для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по количественному определению ДНК выявляемых микроорганизмов, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для количественного определения ДНК выявляемых микроорганизмов в биологическом материале методом ПЦР.

## 11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА<sup>7</sup>

### 11.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 12.

Таблица 12

Предел обнаружения		
Мишень	Предел обнаружения, ГЭ/мл	95 %-ый ДИ, ГЭ/мл
ДНК <i>S. trachomatis</i>	200	117 – 311
ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	800	508 – 1254
ДНК <i>M. genitalium</i>	800	473 – 1313
ДНК <i>T. vaginalis</i>	0,75	0,46 – 1,23
ДНК <i>U. parvum</i>	800	493 – 1231
ДНК <i>U. urealyticum</i>	800	486 – 1306
ДНК <i>M. hominis</i>	400	273 – 570
ДНК <i>Candida</i> spp.	20	14,1 – 27,9
ДНК <i>Lactobacillus</i> spp.	1000	622 – 1585
ДНК <i>G. vaginalis</i>	250	162 – 389
ДНК <i>A. vaginae</i>	250	171 – 439
ДНК <i>P. bivia</i>	250	154 – 402
ДНК <i>Mobiluncus</i> spp.	250	156 – 412
ДНК <i>Streptococcus</i> spp.	1700	1089 – 2220
ДНК <i>Enterobacterium</i> spp.	1400	876 – 2645
ДНК <i>Staphylococcus</i> spp.	1700	1116 – 2570
ДНК HSV1	800	467 – 1355
ДНК HSV2	800	472 – 1347
ДНК CMV	500	308 – 789

<sup>7</sup> Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартных образцов предприятия, содержащих векторы со специфическими последовательностями ДНК выявляемых микроорганизмов.

## 11.2 Диапазон измерения и предел измерения

Диапазон измерения и предел измерения набора указаны в таблице 13.

Таблица 13

### Диапазон измерения и предел измерения

Мишень	Диапазон измерения, ГЭ/мл	Предел измерения, ГЭ/мл
ДНК <i>C. trachomatis</i>	$4 \cdot 10^2 - 1 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^2$
ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	$1,6 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^3$
ДНК <i>M. genitalium</i>	$1,6 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^3$
ДНК <i>T. vaginalis</i>	$1,5 - 1 \cdot 10^6$	1,5
ДНК <i>U. parvum</i>	$3 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^3$
ДНК <i>U. urealyticum</i>	$3 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^3$
ДНК <i>M. hominis</i>	$1,5 \cdot 10^3 - 2,5 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^3$
ДНК <i>Candida</i> spp.	$40 - 5 \cdot 10^6$	40
ДНК <i>Lactobacillus</i> spp.	$1 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^3$
ДНК <i>G. vaginalis</i>	$5 \cdot 10^2 - 2,5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^2$
ДНК <i>A. vaginae</i>	$5 \cdot 10^2 - 2,5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^2$
ДНК <i>P. bivia</i>	$5 \cdot 10^2 - 2,5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^2$
ДНК <i>Mobiluncus</i> spp.	$5 \cdot 10^2 - 2,5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^2$
ДНК <i>Streptococcus</i> spp.	$3,4 \cdot 10^3 - 8,3 \cdot 10^9$	$3,4 \cdot 10^3$
ДНК <i>Enterobacterium</i> spp.	$2,8 \cdot 10^3 - 7,1 \cdot 10^9$	$2,8 \cdot 10^3$
ДНК <i>Staphylococcus</i> spp.	$1,7 \cdot 10^3 - 8,3 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^3$
ДНК HSV1	$4 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^3$
ДНК HSV2	$4 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^3$
ДНК CMV	$4 \cdot 10^3 - 5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^3$

## 11.3 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 14, и геномной ДНК человека. ДНК микроорганизмов исследовалась в концентрации не менее  $1 \cdot 10^6$  копий/мл, геномная ДНК человека - в концентрации 1 мкг/мл. По итогам тестирования ложноположительных результатов выявлено не было.

Таблица 14

### Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Mobiluncus</i> spp.	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Prevotella bivia</i>	CMV
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	HSV 1 типа
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	HSV 2 типа
<i>Enterobacterium</i> spp.	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	HPV
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-

### 11.3.1 Потенциально ингибирующие вещества

Потенциально ингибирующие вещества (ингибиторы ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР, перечислены в таблице 15.

Таблица 15

**Потенциально ингибирующие вещества**

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистых оболочек цервикального канала	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоил-амино) пропил] аммоний хлорид моногидрат	Антисептическое средство для местного применения	0,001 %	10 % от рекомендованной дозы
	Гель-смазка интимная Contex Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объём в образце в условиях «наихудшего случая»
	Цельная кровь	–	Эндогенная	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок	субстанция	150 мкг/мл	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции<sup>8</sup> ДНК из образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 15. Далее с экстрагированными образцами проводили ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech STIC (R)».

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально ингибирующих веществ на ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech STIC (R)», отсутствует.

### 11.4 Прецизионность измерения

Коэффициент вариации повторяемости  $CV_p$  значений концентрации, характеризующий внутрисерийную повторяемость измерений с использованием набора, не превышает 5 %.

Коэффициент вариации воспроизводимости  $CV_v$  значений концентрации, характеризующий межсерийную воспроизводимость измерений с использованием набора, не превышает 10 %.

### 11.5 Правильность измерения

Систематическая погрешность, характеризующая правильность измерения с использованием набора, не превышает 15 %.

### 11.6 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 16.

<sup>8</sup> Экстракция проводилась с использованием набора реагентов «ДНК-100 (R)» (ООО «Ампитек»).

### Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Мишень	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
		положит.	отрицат.		
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала + мазки со слизистой оболочки влагалища	ДНК <i>C. trachomatis</i>	25	181	88,7 – 100	98,4 – 100
	ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	25	181	88,7 – 100	98,4 – 100
	ДНК <i>M. genitalium</i>	25	181	88,7 – 100	98,4 – 100
	ДНК <i>T. vaginalis</i>	25	181	88,7 – 100	98,4 – 100
	ДНК HSV1	25	181	88,7 – 100	98,4 – 100
	ДНК HSV2	20	186	86,1 – 100	98,4 – 100
	ДНК CMV	18	188	84,7 – 100	98,4 – 100
Мазки со слизистой оболочки влагалища	ДНК <i>C. trachomatis</i>	25	175	88,7 – 100	98,3 – 100
	ДНК <i>N. gonorrhoeae</i>	22	178	87,3 – 100	98,3 – 100
	ДНК <i>M. genitalium</i>	20	180	86,1 – 100	98,3 – 100
	ДНК <i>T. vaginalis</i>	17	183	83,8 – 100	98,4 – 100
	ДНК HSV1	25	175	88,7 – 100	98,3 – 100
	ДНК HSV2	17	183	83,8 – 100	98,4 – 100
	ДНК CMV	15	185	81,9 – 100	98,4 – 100

Диагностические характеристики набора при выявлении условно-патогенных микроорганизмов (*U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *Candida* spp., *G. vaginalis*, *A. vaginae*, *P. bivia*, *Mobiluncus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacterium* spp., *Staphylococcus* spp.) и *Lactobacillus* spp. не определяются в связи с тем, что набор позволяет их выявлять только в количественном формате. Для количественных методик согласно ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 (п. 7.16.2) диагностические характеристики не применимы.

## 12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

### 12.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты ПК U, ОК использовать до истечения срока годности набора. После снятия защитной плёнки реагенты Смесь STIC (R)-1, Смесь STIC (R)-2, STIC (R)-3, Смесь STIC (R)-4 использовать в течение 24 ч.

### 12.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от солнечного света месте. Планшет с реагентами STIC (R) и USB-флеш-накопитель беречь от влаги. Допускается хранить набор при температуре от 8 °С до 25 °С не более 5 суток.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

### 12.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С всеми видами крытых

транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Допускается транспортировать набор при температуре от 8 °С до 25 °С не более 10 суток.

#### **12.4 Эксплуатация**

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Пробирки планшета с реагентами предназначены для однократного использования.

Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

USB-флеш-накопитель беречь от влаги. Накопитель должен использоваться только в зоне проведения реакции амплификации и учёта её результатов (Рабочая зона 3).

### **13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ**

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

Ct	– cycle threshold (пороговый цикл)
в.	– версия
ВК	– внутренний контроль
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКза	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ПК	– положительный контроль
ПО	– программное обеспечение
ПЦР	– полимеразная цепная реакция

### **14 БИБЛИОГРАФИЯ**

1. Taswell C. Limiting dilution assays for the determination of immunocompetent cell frequencies // J. Immunology, – 1981. – Vol. 126. – P. 1614–1619.
2. Allen G. Rodrigo, Paul C. Goracke, Kiarash Rowhanian, James I. Mullins. Quantitation of target molecules from polymerase chain reaction-based limiting dilution assays // AIDS research and human retroviruses. – 1997. – Vol. 13 (9). – P. 737–742.

### **15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ**

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

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний

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 ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

## 16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Гарантийный срок эксплуатации USB-флеш-накопителя равен сроку годности набора.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором и не указанных в данной инструкции, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

## 17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: [www.amplitech.ru](http://www.amplitech.ru).

## 18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Код серии



Дата изготовления



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Предел температуры



Обратитесь к инструкции по применению



Не допускать воздействия солнечного света



Содержимого достаточно для проведения n тестов



Беречь от влаги



Номер по каталогу



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»  
(ООО «Амплитек»),  
Россия, 109235, Москва,  
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42  
тел. (495) 374-13-46, [www.amplitech.ru](http://www.amplitech.ru),  
e-mail: support@amplitech.ru