



Набор реагентов для выявления ДНК *Varicella-zoster virus* (VZV) методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® VZV» по ТУ 21.20.23-170-09286667-2022

АмплиПрайм® VZV

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



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



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ	4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	4
2.1. Формы выпуска, состав и комплектность	4
2.2. Принцип метода	5
2.3. Техническое обслуживание и ремонт	6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	6
3.1. Внутренний контроль качества	6
3.2. Рекомендуемые контрольные материалы	7
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	8
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	8
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	10
6.1. Взятие исследуемого материала	10
6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала	10
6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов	10
6.4. Амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов	11
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	12
7.1. Плазма крови	13
7.2. Слюна	13
7.3. Ликвор	13
7.4. Отделяемое пузырьковыx высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	13
7.5. Отделяемое слизистой оболочки влагалища	14
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	14
8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала	14
8.2. Подготовка реагентов для амплификации	15
8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции	15
8.4. Анализ и вычисление результатов	16
8.5. Интерпретация результатов	17
8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению	18
8.7. Диагностическое значение полученного результата	18
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	19
9.1. Предел обнаружения	19
9.2. Аналитическая специфичность	19
9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения	20
9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность	20
9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ	21
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	22
10.1. Срок годности	22
10.2. Транспортирование	22
10.3. Хранение	22
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	22
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ct	– Cycle threshold (пороговый цикл)
VZV	– <i>Varicella-zoster virus</i>
ВКО	– внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
дНТФ	– дезоксирибонуклеотидтрифосфаты
ПК	– положительный контроль
К-	– отрицательный контроль ПЦР
ОКО	– отрицательный контрольный образец экстракции
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РУ	– регистрационное удостоверение
ТУ	– технические условия
УДГ	– урацил-ДНК-гликозилаза

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для выявления ДНК *Varicella-zoster virus* (VZV) методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® VZV» по ТУ 21.20.23-170-09286667-2022.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® VZV», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АмплиПрайм® VZV» предназначен для выявления ДНК *Varicella-zoster virus* (VZV) в биологическом материале (плазма крови, слюна, ликвор, отделяемое пузырьков высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, отделяемое слизистой оболочки влажных мест) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

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

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro* (выявление ДНК *Varicella-zoster virus* (VZV) методом ПЦР в биологическом материале человека).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для скринингового исследования биологического материала от всех групп населения, в том числе от лиц с подозрением на инфекционные кожные заболевания, герпесвирусную инфекцию вне зависимости от формы и стадии заболевания, а также в скрининге при беременности. Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания.

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

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

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

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Формы выпуска, состав и комплектность

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

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

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

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
ПЦР-смесь VZV	1,20	1 пробирка	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и ДНТФ. Прозрачная жидкость.
ПЦР-буфер-Н	0,65	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
ПКО VZV	0,26	1 пробирка	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 2			
ПЦР-смесь VZV	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок) ¹	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и ДНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана в стрипованные пробирки под парафин белого цвета.
ПЦР-буфер-К	1,20	1 пробирка	Буферный раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq, сульфатом магния и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость красного цвета.
ПКО VZV	0,26	1 пробирка	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,26	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

Комплектность набора

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

2.2. Принцип метода

Принцип тестирования основан на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом (ВКО-FL³) и одновременной амплификации участка ДНК VZV и искусственно синтезированной последовательности ДНК ВКО с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

¹ Пробирки с голубым парафином не используются.

² Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

³ ВКО-FL входит в состав набора реагентов, рекомендованного Производителем для экстракции ДНК из исследуемого материала, или приобретается дополнительно.

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

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

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

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке амплифицируются участок ДНК VZV и последовательность ВКО. Результаты амплификации регистрируются по двум различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

Таблица 3

Соответствие ДНК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	FAM	R6G ⁴
ДНК-мишень	ДНК VZV	ДНК ВКО (экзогенный ВКО)
Область амплификации	Tegument protein UL21, ORF38	Искусственно синтезированная последовательность

2.3. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

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

⁴ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

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

Отрицательный контроль ПЦР (К-) тестируется, начиная с этапа ПЦР, и позволяет дополнительно контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должна детектироваться ДНК VZV и ВКО. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех образцов, в которых обнаружена ДНК VZV и ВКО, начиная с этапа ПЦР.

В качестве положительного контроля ПЦР используется реагент ПКО VZV, входящий в состав набора. В случае несоответствия результатов для положительного контроля заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ПЦР.

3.1.2. Контроль ингибирования

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

3.1.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

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

3.2. Рекомендуемые контрольные материалы

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

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

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

4.3. Непригодными для исследования являются образцы плазмы крови, взятые в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта.

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

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

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

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

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

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

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁵, биологический материал⁶, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

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

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

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

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).

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

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

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

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

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

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

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

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

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

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

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (отделяемое пузырьковыми высыпаниями и эрозивно-язвенными поражениями кожи и слизистых оболочек, отделяемое слизистой оболочки влагалища), содержащая буферно-солевой раствор с муколитиком, консервантом и стабилизатором (например, «Транспортная среда с муколитиком «АмплиПрайм ТСМ» (РУ № ФСР 2012/14205) или другая, зарегистрированная в РФ).

6.1.2. Зонд для взятия биологического материала с поверхности слизистых оболочек (отделяемое пузырьковыми высыпаниями и эрозивно-язвенными поражениями кожи и слизистых оболочек, отделяемое слизистой оболочки влагалища) однократного применения, стерильный. Рабочая часть зонда может отламываться по имеющейся насечке.

6.1.3. Емкость для взятия, транспортировки и хранения слюны, ликвора (объемом до 2 мл), однократного применения, стерильная, с завинчивающейся или плотно защелкивающейся крышкой, изготовленная из полипропилена.

6.1.4. Вакуумные пробирки для взятия крови с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитратом натрия).

6.1.5. Двухсторонняя игла для взятия крови в вакуумную пробирку, одноразовая, стерильная.

6.1.6. Игла для забора ликвора, одноразовая, стерильная.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Предварительная обработка крови для получения плазмы

6.2.1.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2 мл.

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

6.2.1.3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.1.4. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.2.1.5. Вортекс.

6.3. Экстракция ДНК из исследуемых образцов

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

- набор позволяет выделять ДНК из биологического материала (плазма крови, слюна, ликвор, отделяемое пузырьковыми высыпаниями и эрозивно-язвенными поражениями кожи и слизистых оболочек, отделяемое слизистой оболочки влагалища) для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции;

- набор не относится к экспресс-методам экстракции ДНК;

- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 100 мкл;

- набор позволяет проводить элюцию очищенной ДНК в объеме не менее 50 мкл.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошли «МагноПрайм ФАСТ» (РУ № РЗН 2019/8043) и «АмплиПрайм РИБО-преп» (РУ № ФСР 2012/14017).

Таблица 4

Соответствие наборов для экстракции и биоматериала

Биоматериал	Набор для экстракции
Отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, отделяемое слизистой оболочки влагаллица	МагноПрайм ФАСТ
Плазма крови, ликвор, слюна	АмплиПрайм РИБО-преп

6.3.2. Реагент ВКО-FL (ООО «НекстБио», Россия) – при использовании комплекта реагентов для экстракции «АмплиПрайм РИБО-преп» или любого другого набора, в состав которого не включен ВКО-FL.

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

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

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки, свободные от ДНКаз, следующих видов (при использовании формы выпуска 1):

- завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 - 2 мл – для приготовления реакционной смеси.

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

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

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

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

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

6.4.5. Центрифуга-вортекс.

6.4.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.7. Станция автоматическая с модулем для приготовления и раскапки реакционных смесей и комплект расходных материалов к ней согласно инструкции Производителя, - при использовании формы выпуска 1 в случае приготовления реакционной смеси с использованием автоматической станции.

6.4.8. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного либо планшетного типа, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- наличие независимых каналов флуоресцентной детекции для флуорофоров FAM и R6G со следующими характеристиками:

Таблица 5

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

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

- для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100 °С;
- точность поддержания температуры $\leq \pm 0,4$ °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек.

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошли следующие программируемые амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени»: Rotor-Gene Q (РУ № ФСЗ 2010/07595), С1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (РУ № ФСЗ 2008/03399), ДТпрайм (РУ № ФСР 2011/10229).

6.4.9. Холодильник от 2 до 8 °С.

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

6.4.11. Емкость для сброса наконечников.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служат:

- плазма крови;
- слюна;
- ликвор;
- отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек;
- отделяемое слизистой оболочки влагалища.

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

7.1. Плазма крови

Взятие крови проводится утром натощак в пробирку с раствором ЭДТА или цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают и хранят при температуре от 2 до 8 °С не более 6 ч. Пробирку с цельной кровью центрифугируют 20 мин при 800 - 1600 g при комнатной температуре. Полученную плазму переносят в количестве не менее 1 мл отдельными наконечниками с аэрозольным барьером в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 2,0 мл.

Условия хранения материала:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.2. Слюна

Отобрать не менее 1 мл слюны в одноразовую стерильную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл.

Условия хранения материала:

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.3. Ликвор

Ликвор собирают с помощью одноразовых игл в одноразовые стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл в количестве не менее 1,0 мл.

Условия хранения материала:

- при комнатной температуре (до 25 °С) – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 месяца;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.4. Отделяемое пузырьковыx высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек

С пораженных участков удалить корочку и при наличии везикул покрывку удалить стерильной иглой.

Взятие материала провести с помощью стерильного зонда-тампона в пробирку с транспортной средой в соответствии с инструкцией по применению зонда.

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – не более 28 суток;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

7.5. Отделяемое слизистой оболочки влагалища

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

ВНИМАНИЕ! Во избежание контаминации, нельзя обрезать зонд ножницами!

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

- при комнатной температуре (до 25 °С) – не более 28 суток;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 4 месяцев;

либо согласно инструкции к используемой транспортной среде.

Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинко-диагностической лаборатории⁷:

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

8.1. Экстракция ДНК из исследуемого материала

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

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

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

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

- объем реагента ВКО-FL – **10 мкл** в пробирку с ОКО, а также в каждую пробирку с исследуемыми образцами;
- объем исследуемого образца – **100 мкл** в пробирки для исследуемых образцов;
- объем реагента ОКО – **100 мкл** в пробирку для ОКО;
- объем реагента, используемого для элюции ДНК, – **50 мкл**⁸ (при использовании комплекта реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп») или **100 мкл** (при использовании набора реагентов «МагноПрайм ФАСТ»).

⁷ Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

⁸ При необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл.

8.2. Подготовка реагентов для амплификации

8.2.1. При использовании формы выпуска 1

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

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

8.2.1.1. Рассчитать объемы **ПЦР-смеси VZV** и **ПЦР-буфера-Н**, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 6). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 6

Расчет объемов компонентов для одной реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь VZV	$10,0 \cdot (N+1)$	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
ПЦР-буфер-Н	$5,0 \cdot (N+1)$	

8.2.1.2. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с **ПЦР-смесью VZV** и **ПЦР-буфером-Н**, осадить капли на вортексе.

8.2.1.3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.1.1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.2. При использовании формы выпуска 2

8.2.2.1. Отобрать необходимое количество стрипов с **ПЦР-смесью VZV** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.

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

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

8.3. Внесение проб ДНК, проведение амплификации и детекции

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

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе программирование и запуск амплификатора проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору. При использовании программного обеспечения FRT Manager программирование амплификатора устанавливается автоматически.

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

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

а) положительный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца **ПК** внести **10 мкл** реагента **ПКО VZV**.

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

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

8.3.3. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения единой программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. таблицу 7).

Таблица 7

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

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

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

8.3.4. Перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

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

8.3.6. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

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

8.4. Анализ и вычисление результатов

Анализ и обработку результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: <https://www.interlabservice.ru/service/frt/>;

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

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

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

Кривые накопления флуоресцентного сигнала анализируются по двум каналам детекции (см. таблицу 8).

Таблица 8

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	FAM	R6G
Продукт амплификации	ДНК VZV	ДНК ВКО

8.5. Интерпретация результатов

Интерпретацию результатов проводят в двух вариантах:

- вручную в соответствии с таблицей 9 и вкладышем, прилагаемым к набору. Результат исследования считают достоверным, если результаты, полученные для контрольных образцов, соответствуют критериям валидности, указанным в таблице 10;

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

Таблица 9

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Значение Ct по каналам для флуорофоров FAM и R6G не определено или определено выше граничного ⁹ .	Невалидный! Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Значение Ct по каналу для флуорофора FAM определено не выше граничного . При этом кривая флуоресценции данной пробы по данному каналу пересекает пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции. Значение Ct по каналу для флуорофора R6G не учитывается.	ДНК <i>Varicella-zoster virus</i> обнаружена
Значения Ct по каналу для флуорофора FAM не определено или определено выше граничного , а по каналу для флуорофора R6G определено не выше граничного .	ДНК <i>Varicella-zoster virus</i> не обнаружена

⁹ Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Критерии валидности для контрольных образцов

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора	
	FAM	R6G
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Значение Ct отсутствует	Определено значение Ct не выше граничного ¹⁰
К- (отрицательный контроль ПЦР)	Значение Ct отсутствует	
ПКО VZV	Определено значение Ct не выше граничного	Значение Ct отсутствует

8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению

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

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

8.6.3. Для положительного контрольного образца (ПКО) по каналу для флуорофора FAM значение Ct отсутствует или определено больше граничного. Вероятна ошибка на этапе амплификации, необходимо провести повторно этап ПЦР для всех отрицательных образцов.

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

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

8.7. Диагностическое значение полученного результата

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

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

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Предел обнаружения¹¹

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® VZV» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью (см. таблицу 11).

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

Таблица 11

Предел обнаружения набора

Биологический материал	Предел обнаружения по Probit 95%, копий/мл	95%-ый доверительный интервал, копий/мл
плазма крови	5×10^2	$4,32 \times 10^2 - 7,34 \times 10^2$
слюна	5×10^2	$4,29 \times 10^2 - 6,93 \times 10^2$
ликвор	5×10^2	$3,92 \times 10^2 - 6,51 \times 10^2$
отделяемое пузырьковыми высыпаниями и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	5×10^2	$3,71 \times 10^2 - 6,18 \times 10^2$
отделяемое слизистой оболочки влагалища	5×10^2	$4,16 \times 10^2 - 6,83 \times 10^2$

9.2. Аналитическая специфичность

Набор «АмплиПрайм® VZV» обнаруживает только фрагмент ДНК *Varicella-zoster virus*.

Аналитическая специфичность набора оценивалась тестированием ДНК микроорганизмов, вирусов (см. таблицу 12) и геномной ДНК человека. ДНК микроорганизмов и вирусов в концентрации не менее 1×10^6 копий/мл и геномную ДНК человека в концентрации 1 мкг/мл вносили в образцы биологического материала, не содержащие ДНК *Varicella-zoster virus*.

Таблица 12

Микроорганизмы и вирусы, используемые для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы и вирусы	
<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	CMV
<i>Neisseria mucosa</i>	HHV6
<i>Neisseria sicca</i>	HSV I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	HSV II
<i>Neisseria subflava</i>	EBV

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов, вирусов и геномной ДНК человека с использованием набора перекрестных реакций выявлено не было.

¹¹ Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация ДНК выявляемого возбудителя, при которой 95% тестов дают положительный результат).

9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения

Воспроизводимость и повторяемость результатов с использованием набора оценивали путем тестирования модельных образцов в двух концентрациях (см. таблицу 13 и 14). Модельные образцы были приготовлены разведением стандартных образцов предприятия, содержащих ДНК *Varicella-zoster virus*, на ТЕ-буфере. Каждый образец проходил все этапы исследования (экстракцию ДНК, амплификацию ДНК и детекцию результатов).

Таблица 13

Повторяемость измерения

Концентрация, копий/мл	Среднее значение порогового цикла, C_{cp}	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
Форма выпуска 1			
5x10 ²	39,70	0,31	0,78
1x10 ³	38,32	0,28	0,73
Форма выпуска 2			
5x10 ²	39,62	0,29	0,74
1x10 ³	38,39	0,29	0,74

Таблица 14

Воспроизводимость измерения

Концентрация, копий/мл	Среднее значение порогового цикла, C_{cp}	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV), %
Форма выпуска 1			
5x10 ²	39,76	0,30	0,75
1x10 ³	38,30	0,30	0,78
Форма выпуска 2			
5x10 ²	39,68	0,31	0,79
1x10 ³	38,32	0,24	0,62

9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность

Для определения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® VZV» были использованы образцы каждого вида биоматериала, предусмотренного назначением набора реагентов, в количестве, указанном в таблице 15.

В качестве набора сравнения, с помощью которого устанавливали наличие/отсутствие ДНК VZV, использовался набор реагентов «АмплиСенс® VZV-FL» (ПУ № ФСР 2012/13619).

Таблица 15

Результаты тестирования образцов биологического материала с помощью набора «АмплиПрайм® VZV»

Исследуемые образцы		Результаты тестирования		
Тип	Количество	Образцы	Тестируемый набор «АмплиПрайм® VZV»	Набор сравнения «АмплиСенс® VZV-FL»
плазма крови	120	Положительных	60	60
		Отрицательных	60	60
слюна	120	Положительных	60	60
		Отрицательных	60	60
ликвор	50	Положительных	25	25
		Отрицательных	25	25
отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	120	Положительных	60	60
		Отрицательных	60	60
отделяемое слизистой оболочки влагалища	50	Положительных	25	25
		Отрицательных	25	25

Значения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® VZV» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные, исходя из полученных данных, приведены в таблице 16.

Таблица 16

Диагностические характеристики набора реагентов «АмплиПрайм® VZV»

Тип образцов	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность
плазма крови	100 % (94,04 % – 100 %)	100 % (94,04 % – 100 %)
слюна	100 % (94,04 % – 100 %)	100 % (94,04 % – 100 %)
ликвор	100 % (86,28 % – 100 %)	100 % (86,28 % – 100 %)
отделяемое пузырьковы высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	100 % (94,04 % – 100 %)	100 % (94,04 % – 100 %)
отделяемое слизистой оболочки влагалища	100 % (86,28 % – 100 %)	100 % (86,28 % – 100 %)

9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® VZV» отсутствует. Не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала на этапе экстракции интерферирующих веществ, представленных в таблице 17, в максимально возможной концентрации.

Отсутствие влияния интерферирующих веществ для образцов отделяемого слизистой оболочки влагалища (лубриканты, семенная жидкость, антисептик «Мирамистин», итраконазол, метронидазол, мочевины, муцин, гемоглобин, гормоны дидрогестерон и прогестерон) было показано в испытаниях с использованием набора для экстракции «МагноПрайм ФАСТ» (РУ № РЗН 2019/8043).

Отсутствие влияния интерферирующих веществ для образцов плазмы крови (лактоферрин, ацикловир, гематин, иммуноглобулин G, гликоген) было показано в испытаниях с использованием комплекта для экстракции «АмплиПрайм РИБО-преп» (РУ № ФСР 2012/14017).

Таблица 17

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «АмплиПрайм® VZV»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
плазма крови	гемоглобин	200 мг/мл
	билирубин	200 мг/мл
	триглицериды	5000 – 30000 мг/мл
	альбумин	50000 – 60000 мг/мл
слюна	гемоглобин	200 мг/мл
	муцин	2,3 мг/мл
ликвор	гемоглобин	200 мг/мл
отделяемое пузырьковы высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	гемоглобин	200 мг/мл
	муцин	2,3 мг/мл
	мирамистин	0,001%
отделяемое слизистой оболочки влагалища	хлоргексидин	0,1%

Также не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала ДНК человека в концентрации $1,0 \times 10^8$ копий/мл.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

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

10.2. Транспортирование

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

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

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

10.3. Хранение

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

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Реакционная смесь, приготовленная из ПЦР-смеси VZV и ПЦР-буфера-Н, хранению не подлежит.

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

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

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

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

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

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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