



УТВЕРЖДАЮ
Директор по качеству
и регистрации продукции ООО «ТестГен»
_____ Л.М. Халилова
«04» декабря 2025 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

**Набор реагентов для выделения и качественного
выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*
методом мультиплексной полимеразной цепной
реакции с детекцией в режиме реального времени
«Chlamy-T-test-Lyo», в моделях**

ТУ 20.59.52-073-97638376-2024

Содержание

Список сокращений	3
Введение.....	4
1. Назначение.....	5
2. Принцип метода	8
3. Состав набора реагентов	9
4. Характеристики набора реагентов	13
5. Контроль качества	25
6. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo»	28
7. Меры предосторожности при работе с набором	28
8. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором.....	31
9. Анализируемые образцы	35
10. Проведение исследования	41
11. Регистрация и интерпретация результатов	49
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора	52
13. Утилизация	54
14. Гарантийные обязательства, контакты.....	55
Приложение А	56

Список сокращений

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	внутренний контрольный образец
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
КОС	контрольный образец специфичности
КОЧ	контрольный образец для определения чувствительности
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией в режиме «реального времени»

Введение

Целевым анализом, выявляемым при помощи набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», являются специфичные участки геномной ДНК микроорганизмов *Chlamydia trachomatis*.

Научная обоснованность целевого анализа заключается в его специфичности (уникальности последовательности ДНК) в отношении геномов микроорганизмов *Chlamydia trachomatis*.

Chlamydia trachomatis – неподвижные грамотрицательные бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами эукариотических клеток, принадлежат к семейству Chlamydiaceae. Обладают тропизмом к цилиндрическому эпителию и способны поражать слизистую оболочку уретры, цервикального канала, прямой кишки, ротоглотки и конъюнктивы глаз¹.

Инфицирование урогенитальными инфекциями взрослых лиц происходит при половом контакте с больным, детей – интранатальным путем; в исключительных случаях девочки младшего возраста могут инфицироваться при нарушении правил личной гигиены.

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика, инфекционная диагностика.

Набор реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» предназначен для однократного применения.

Материалом для проведения исследования служат пробы ДНК, выделенные из клинического материала человека – мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы глаза, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки.

Показания к применению

ВНИМАНИЕ! Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для выявления ДНК *Chlamydia trachomatis* методом

¹ Клинические рекомендации: Хламидийная инфекция. Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2024 г.

мультиплексной ПЦР в реальном времени для исследования клинического материала, полученного от лиц с клиническими и/или лабораторными признаками воспалительного процесса органов уrogenитального тракта, кишечника, ротоглотки, глаз, а также при подозрениях на инфицирование.

Противопоказания к применению отсутствуют, за исключением случаев, когда взятие материала не может быть осуществлено по медицинским показаниям.

Ожидаемые и предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением медицинского изделия по назначению: применяемый способ исследования ДНК относится к неинвазивным процедурам, не несёт угрозы здоровью человека и не вызывает осложнений.

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия: ограничения по применению медицинского изделия в различных популяционных и демографических группах отсутствуют.

Стерильность: изделие нестерильно.

1. Назначение

Назначение: набор реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении в медицинских учреждениях и клинко-диагностических лабораториях для выделения (модель «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo») и качественного выявления (модель «Chlamy-T-test-Lyo» и «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo») специфичных участков геномной ДНК *Chlamydia trachomatis* методом мультиплексной аллель-специфической полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в пробе ДНК, выделенной из клинического материала человека (мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы глаза, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки), полученного от лиц с клиническими и/или лабораторными признаками воспалительного процесса органов уrogenитального тракта,

кишечника, ротоглотки, глаз, а также при подозрениях на инфицирование.

Ограничения по применению медицинского изделия в различных популяционных и демографических группах отсутствуют.

Функциональное назначение. Полученные результаты могут использоваться при диагностике инфекционного заболевания урогенитального тракта, кишечника, ротоглотки, глаз, вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации в сочетании с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Специфическое расстройство, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие – набор реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» предназначен для качественного выявления специфичных участков геномной ДНК *Chlamydia trachomatis* в пробе ДНК, выделенной из клинического материала человека (мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы глаза, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки), полученного от лиц с клиническими и/или лабораторными признаками воспалительного процесса органов урогенитального тракта, кишечника, ротоглотки, глаз, а также при подозрениях на инфицирование.

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях. Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский технолог, медицинский лабораторный техник.

Ограничения метода. Возможная причина получения ложноположительного результата — контаминация на этапе выделения ДНК, либо проведения реакции мультиплексной ПЦР. Ложноположительный результат может быть выявлен с помощью отрицательного контрольного образца.

Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах исследования с использованием данного набора реагентов. В диагностических целях результаты должны использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей клинической картиной, результатами исследования другими тест-системами, применяемой терапией.

Критерии непригодности медицинского изделия для применения.

Набор реагентов по истечении срока годности применению не подлежит.

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

Набор реагентов, транспортированный или хранившийся с нарушением температурного режима, применению не подлежит.

2. Принцип метода

Метод

Мультиплексная аллель-специфическая полимеразная цепная реакция в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

Тип анализируемого образца

Материалом для проведения исследования служат пробы ДНК, выделенные из клинического материала человека: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы глаза, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки.

Принцип определения

Качественное выявление ДНК *Chlamydia trachomatis* методом мультиплексной аллель-специфической ПЦР в реальном времени в пробе ДНК, выделенной из клинического материала человека, включает в себя три этапа:

1. Подготовку ПЦР;
2. ПЦР-амплификацию ДНК и гибридизационно-флуоресцентную детекцию продуктов амплификации в режиме реального времени;
3. Интерпретацию результатов.

С пробами ДНК проводятся реакции амплификации участков генов при помощи специфичных к этим участкам ДНК праймеров в реакционном буфере.

В состав реакционной смеси входят все основные реагенты, включая термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», dNTP, урацил-ДНК-гликозидазу, оптимизированный буфер и криопротекторы. Наличие фермента урацил-ДНК-гликозидазы препятствует получению ложноположительных результатов при контаминации продуктами амплификации, при этом фермент полностью инактивируется в процессе первого цикла денатурации ДНК и не препятствует амплификации продуктов текущей реакции.

В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с

комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени и разрушаются *Taq*-полимеразой, в результате чего разобщаются краситель и тушителем, и происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала в режиме реального времени.

Набор содержит реагенты для мультиплексного определения высокоспецифичных участков ДНК *Chlamydia trachomatis*, а также специфичного фрагмента гена *COMT* человека (для контроля взятия материала, далее – КВМ) (табл. 1). КВМ позволяет подтвердить факт взятия материала от человека, оценить качество, эффективность выделения ДНК и возможного наличия ингибиторов в пробе, присутствие которых может привести к ложноотрицательным результатам.

Таблица 1 – Состав мишеней, входящих в набор

Канал, соответствующий флуорофору	
FAM	HEX
<i>Chlamydia trachomatis</i>	КВМ (ген <i>COMT</i> человека)

Время проведения реакции мультиплексной ПЦР составляет около 70 мин. (без учета пробоподготовки).

3. Состав набора реагентов

Набор реагентов для выделения и качественного выявления ДНК *Chlamydia trachomatis* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени «Chlamy-T-test-Lyo», в моделях:

1. Модель «Chlamy-T-test-Lyo» – включает комплект реагентов для постановки ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo»;

2. Модель «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo» – включает комплект реагентов для постановки ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo» и комплект реагентов для выделения НК «NA-Extract».

Количество анализируемых проб

Для всех моделей – набор реагентов рассчитан на 96 реакций, что соответствует определению 94 исследуемых образцов, отрицательных и положительных образцов при единичном запуске амплификатора на 96 лунок или 32 единичным постановкам исследуемых образцов с отрицательными и положительными контрольными образцами в каждой постановке.

Состав набора

Таблица 2 – Состав модели «Chlamy-T-test-Lyo»

№ пп	Название реагента	Описание	Количество, объем
1.	ЛРС	Сухая аморфная пористая масса белого или слабо розового цвета	96 пробирок, объединенных «мостиками» в планшет
2.	ПКО	Сухая аморфная пористая масса белого цвета	1 флакон (лиофилизат)
3.	Раствор для восстановления ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка 1800 мкл
4.	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка 1800 мкл
5.	Пленка для заклеивания ПЦР-планшета	Прозрачная пленка, предназначенная для герметизации ПЦР-планшетов и предотвращения потери образца во время амплификации	2 шт.

Таблица 3 – Состав модели «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo»

№ пп	Название реагента	Описание	Количество, объем
Комплект реагентов для постановки ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo»			
1	ЛРС	Сухая аморфная пористая масса белого или слабо розового цвета	96 пробирок, объединенных «мостиками» в планшет
2	ПКО	Сухая аморфная пористая масса белого цвета	1 флакон (лиофилизат)
3	Раствор для восстановления ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка 1800 мкл
4	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка 1800 мкл
5	Пленка для заклеивания ПЦР-планшета	Прозрачная пленка, предназначенная для герметизации ПЦР-планшетов и предотвращения потери образца во время амплификации	2 шт.
Комплект реагентов для выделения НК «NA-Extract»			
1	Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость, допускается желтый оттенок	1 флакон (48 мл)
2	Магнитные частицы	Коричневая суспензия	1 пробирка, (960 мкл)
3	Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (68 мл)
4	Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона (по 68 мл)
5	Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (21 мл)

Описание компонентов комплекта реагентов для постановки

ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo»

Лиофилизированная реакционная смесь (ЛРС) для ПЦР готова к использованию и содержит все основные реагенты, включая термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», дезоксинуклеотидтрифосфаты, урацил-ДНК-гликозидазу, оптимизированный буфер и криопротекторы. Также в состав ЛРС входит смесь праймеров и зондов:

1. Праймеры и зонд к специфичному участку геномной ДНК *Chlamydia trachomatis*. Детекция осуществляется по каналу FAM.

2. Праймеры и зонд к КВМ. Детекция осуществляется по каналу HEX.

Положительный контрольный образец (ПКО) представляет собой лиофилизированную смесь плазмид с синтетическими вставками последовательностей, комплементарных мишеням *Chlamydia trachomatis*, и гена СОМТ человека (контроль взятия материала) в ТЕ буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) с криопротекторами. Концентрация каждой из плазмид после восстановления в указанном объеме составляет 100 000 копий/мл.

Отрицательный контрольный образец (ОКО) готов к использованию и представляет собой деионизованную воду, свободную от ДНКаз и РНКаз.

Раствор для восстановления ПКО представляет собой деионизованную воду, свободную от ДНКаз и РНКаз.

В составе набора отсутствуют лекарственные средства для медицинского применения, вещества человеческого или животного происхождения.

Описание компонентов комплекта реагентов для выделения НК «NA-Extract»

Буфер для связывания готов к использованию и включает в состав компоненты для лизирования биоматериала и связывания ДНК с поверхностью магнитных частиц.

Раствор магнитных частиц готов к использованию и представляет собой суспензию магнитных частиц.

Раствор для промывки №1 готов к использованию и включает в состав компоненты для промывки ДНК от остатков биоматериала.

Раствор для промывки №2 готов к использованию и включает в состав компоненты для промывки ДНК от остатков биоматериала и раствора для промывки №1.

Элюент готов к использованию и включает в состав компоненты для десорбции очищенных ДНК с поверхности магнитных частиц.

4. Характеристики набора реагентов

4.1. Технические и функциональные характеристики

Таблица 4 – Характеристики набора реагентов модели
«Chlamy-T-test-Lyo»

Наименование показателя	Характеристики и нормы
1. Технические характеристики	
Комплект реагентов для постановки ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo»	
1.1. Внешний вид	
1.1.1 Модель «Chlamy-T-test-Lyo»	
ЛРС	Сухая аморфная пористая масса белого или слабо розового цвета
ПКО	Сухая аморфная пористая масса белого цвета
Раствор для восстановления ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость
Пленка для заклеивания ПЦР-планшета	Прозрачная пленка, предназначенная для герметизации ПЦР-планшетов и предотвращения потери образца во время амплификации
1.2. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.3. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.4. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
2. Функциональные характеристики	
2.1 Модель «Chlamy-T-test-Lyo»	
Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM Ct ≤ 35 и HEX Ct ≤ 35 .
Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналу FAM > 35 или не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) и по каналу HEX Ct не указан или >35 .
Прохождение реакции в пробирках с СОП-КОС	В пробирках с СОП-КОС по каналу FAM не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует), по каналу HEX Ct 25-30.
Прохождение реакции в пробирках с СОП-КОЧ- <i>Chlamydia trachomatis</i>	В пробирке с СОП-КОЧ- <i>Chlamydia trachomatis</i> по каналу FAM Ct ≤ 35 во всех повторях (не менее 4), и по каналу HEX Ct не указан или более 35 цикла

Таблица 5 – Характеристики набора реагентов модели
«Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo»

Наименование показателя	Характеристики и нормы
Комплект реагентов для постановки ПЦР «Chlamy-T-test-Lyo»	
1. Технические характеристики	
1.1. Внешний вид	
ЛРС	Сухая аморфная пористая масса белого или слабо розового цвета
ПКО	Сухая аморфная пористая масса белого цвета
Раствор для восстановления ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость
Пленка для заклеивания ПЦР-планшета	Прозрачная пленка, предназначенная для герметизации ПЦР-планшетов и предотвращения потери образца во время амплификации
1.2. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.3. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.4. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
2. Функциональные характеристики	
Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM Ct ≤ 35 и HEX Ct ≤ 35.
Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналу FAM > 35 или не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) и по каналу HEX Ct не указан или >35.
Прохождение реакции в пробирках с СОП-КОС	В пробирках с СОП-КОС по каналу FAM не указан, по каналу HEX Ct 25-30.
Прохождение реакции в пробирках с СОП-КОЧ- <i>Chlamydia trachomatis</i>	В пробирке с СОП-КОЧ- <i>Chlamydia trachomatis</i> по каналу FAM Ct ≤ 35 во всех повторях (не менее 4), и по каналу HEX Ct не указан или более 35 цикла
Комплект реагентов для выделения НК «NA-Extract»	
1. Технические характеристики	
1.1. Внешний вид	
Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость, допускается

	желтый оттенок
Магнитные частицы	Коричневая суспензия
Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
1.2. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.3. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
1.4. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 20.59.52-073-97638376-2024
2. Функциональные характеристики	
2.2. Отсутствие контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК	Отрицательный результат с ОКО в контрольной ПЦР по каналам FAM и HEX
2.3. Пригодность ДНК для ПЦР	При тестировании контрольного образца выделения (КВ), прошедшего этап выделения ДНК с помощью комплекта «NA-Extract», по каналам FAM и HEX Ct не более 30 цикла, и значение Δ Ct между выходом КВ, прошедшим выделение, и КВ без выделения по каналам FAM и HEX не более 2 циклов (во всех дублях).

4.2. Характеристики аналитической эффективности

4.2.1. Аналитическая чувствительность

Предел обнаружения (LOD)

По результатам исследования набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» предел обнаружения ДНК *Chlamydia trachomatis* в образцах с частотой выявления 95 % составляет:

Модель (набор выделения НК)	Используемый амплификатор	Концентрация ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i> , копии/мл (LOD) с доверительной вероятностью 95 %	Доверительный интервал с доверительной вероятностью 95 %
Модель «Chlamy-T-test-Lyo» («НК-Экстра»)	ДТпрайм	179	145-213
	CFX 96	194	160-228
	QuantStudio 5	181	147-215
	FLUORITE	182	148-216
	LOCUS	193	159-227
Модель «Chlamy-T-test-Lyo» («ДНК-Фаст»)	ДТпрайм	500	466-534
	CFX 96	478	444-512
	QuantStudio 5	483	449-517
	FLUORITE	494	460-528
	LOCUS	489	455-523
Модель «Chlamy-T-test-Lyo» («НК-Экстра-SW»)	ДТпрайм	194	160-228
	CFX 96	182	148-216
	QuantStudio 5	179	145-213
	FLUORITE	185	151-219
	LOCUS	194	160-228
Модель «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo» («NA-Extract»)	ДТпрайм	171	137-205
	CFX 96	200	166-234
	QuantStudio 5	185	151-219
	FLUORITE	172	138-206
	LOCUS	183	149-217
Модель «Chlamy-T-test-Lyo» («МАГНО-сорб»)	ДТпрайм	195	161-229
	CFX 96	191	157-225
	QuantStudio 5	165	131-199
	FLUORITE	198	164-232
	LOCUS	157	123-191

4.2.2. Аналитическая специфичность

Специфичен по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis*.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце ДНК *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Neisseria flava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, *HSV 1 и 2 типа*, *CMV*, *HPV* неспецифических реакций выявлено не было.

4.2.3 Прецизионность в условиях повторяемости

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости использовали стандартные образцы предприятия:

- **положительный контрольный образец (ПКО)** готов к использованию и представляет собой смесь плазмид с синтетическими вставками последовательностей, комплементарных мишеням *Chlamydia trachomatis* в консерванте со стабилизаторами с концентрацией 100 000 копий/мл каждой и участок гена СОМТ человека (контроль взятия материала) с концентрацией 500 000 копий/мл (контроль взятия материала);

- **отрицательный контрольный образец (ОКО)** готов к использованию и представляет собой воду деионизованную;

- **контрольный образец для определения чувствительности (СОП-КОЧ-*Chlamydia trachomatis*)** готов к использованию, используют плазмиды с синтетическими вставками последовательностей, комплементарных мишеням СОП-КОЧ-*Chlamydia trachomatis* в консерванте с концентрацией 200 копий/мл;

- **контрольный образец специфичности (СОП-КОС)** готов к использованию и представляет собой раствор геномной ДНК человека, выделенный из клеточной линии U-937 с концентрацией 1 000 копий на 6 мкл (167 000 копий/мл).

Контрольные образцы СОП-КОЧ-Chl, СОП-КОС, ПКО, ОКО были исследованы в количестве 10 повторов с использованием набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo». Данные по повторяемости получали внутри лаборатории для конкретного оборудования и

внутри конкретной партии набора реагентов.

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости рассчитывали среднее арифметическое выборки, дисперсию, среднеквадратическое отклонение и коэффициент вариации по полученным значениям в повторах контрольных образцов.

Результаты исследования показали, что коэффициент вариации в условиях повторяемости набора «Chlamy-T-test-Lyo» моделей «Chlamy-T-test-Lyo» и «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo», составляет не более 3 %.

4.2.4 Прецизионность в условиях воспроизводимости

Оценку воспроизводимости тест-системы проводили аналогично расчету прецизионности в условиях повторяемости, однако для тестирования использовали различные партии набора реагентов, реакции ставили в разных лабораториях, разные операторы, в разные дни, на разных ПЦР-амплификаторах (Блок воспроизводимости 1, Блок воспроизводимости 2, Блок воспроизводимости 3, Блок воспроизводимости 4, Блок воспроизводимости 5).

При проведении исследований прецизионности в условиях воспроизводимости наблюдалась полная внутривыставочная, межвыставочная и межсерийная воспроизводимость. Результаты исследования показали, что коэффициент вариации в условиях повторяемости набора «Chlamy-T-test-Lyo» моделей «Chlamy-T-test-Lyo» и «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo» составляет не более 6%.

4.2.5 Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые могут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», и, предположительно, влиять на способность набора реагентов выдавать достоверные результаты.

Интерферирующие вещества могут происходить от следующих внешних и внутренних источников:

1) вещества, используемые при лечении пациента (например, лекарственные средства);

2) вещества, встречающиеся в конкретных видах образцов – в данном случае, загрязнение клинического образца гемоглобином крови может ингибировать ПЦР при недостаточной очистке при проведении процедуры выделения ДНК.

Эндогенные интерферирующие вещества:

- 1) Гемоглобин - 100 мг/мл;
- 2) Слизь (муцин) - 50 мг/мл.

Экзогенные интерферирующие вещества:

- 3) Хлоргексидин – 0,05 г/мл;
- 4) Мирамистин (бензилдиметил[3 (миристоиламино) пропил]аммония хлорида моногидрат) – 0,1 мкг/мл;
- 5) Клотримазол – 200 мг/мл.

На основании результатов исследования потенциально интерферирующие вещества, встречающиеся при процедуре выделения ДНК из клинического материала, оцениваемые при концентрациях, которые, как ожидается, будут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», не оказывают влияние на результат анализа.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);
- не допускается использование образцов, загрязнённых посторонним биологическим материалом.

4.2.6. Метрологическая прослеживаемость калибровки и приписанное значение калибраторов конечного пользователя – **ПКО**, входящего в состав набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», и рабочих калибраторов **СОП-КОЧ-*Chlamydia trachomatis***, **СОП-КОС** была установлена в соответствии с ГОСТ Р ИСО 17511-2022.

Иерархия калибровки по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis* проведена в соответствии с п. 5.7 ГОСТ Р ИСО 17511-2022 для измерений с метрологической прослеживаемостью только до внутренних произвольно определенных СО производителя.

В качестве арбитражного СО, по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis*, использовали выделенную из биологического материала

человека ДНК исследуемого анализта:

№ п/п	Штрих-код образца	Пол	Возраст	Тип образца	Установленный статус исследуемого анализта набором реагентов «АмплиПрайм® С. trachomatis» в ходе лечебно-диагностического процесса	Наименование образца
1	57683	Ж	35	Мазок со слизистой оболочки влагалища	ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i> обнаружена	CO- <i>Chlamydia trachomatis</i>

Общая иерархия калибровки с указанием неопределенности измерений по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis* на каждом этапе следующая:

Тип образца	Образец	Неопределенность измерений	Суммарная стандартная неопределенность, $u(y)$	Расширенная суммарная неопределенность, $U(y)$
Арбитражный стандартный образец	CO- <i>Chlamydia trachomatis</i> (CO-Chl.t)	$u_{m.3} = 0,04$	1) мазок со слизистой оболочки влагалища – 0,38; 2) соскоб из цервикального канала – 0,34; 3) соскоб из уретры – 0,39;	1) мазок со слизистой оболочки влагалища – 0,76; 2) соскоб из цервикального канала – 0,68; 3) соскоб из уретры – 0,78;
Рабочий калибратор	СОП-КОЧ-Chl	$u_{p.4} = 0,05$	4) клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи – 0,36; 5) секрет предстательной железы – 0,31;	4) клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи – 0,72; 5) секрет предстательной железы – 0,62;
Калибратор МИ IVD конечного пользователя	ПКО	$u_{p.5} = 0,07$ $u_{cal} = 0,09$	6) отделяемое конъюнктивы – 0,32; 7) мазок со слизистой оболочки ротоглотки – 0,25; 8) отделяемое слизистой оболочки	6) отделяемое конъюнктивы – 0,64; 7) мазок со слизистой оболочки ротоглотки – 0,50;

			прямой кишки – 0,19	8) отделяемое слизистой оболочки прямой кишки – 0,38
--	--	--	---------------------	--

Приписанная концентрация калибратора конечного пользователя **ПКО** составляет 10^5 копий/мл, рабочего калибратора **СОП-КОЧ-*Chlamydia trachomatis*** составляет 200 копий/мл.

В соответствии с п. 4.7.1 с) ГОСТ Р ИСО 17511-2022 суммарная стандартная неопределенность измерения значения, присвоенного калибратором МИ IVD конечного пользователя (ПКО) u_{cal} не превышает допустимую долю $U_{max}(y)$ спецификации для МИ IVD с учетом коэффициента охвата k ($k = 2$, для уровня достоверности приблизительно 95 %):

Оценка суммарной стандартной неопределенности измерений набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» по отношению к ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i>	Клинический материал
$u_{cal} = 0,76 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	мазок со слизистой оболочки влагалища
$u_{cal} = 0,68 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	соскоб из цервикального канала
$u_{cal} = 0,78 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	соскоб из уретры
$u_{cal} = 0,72 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи
$u_{cal} = 0,62 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	секрет предстательной железы
$u_{cal} = 0,64 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	отделяемое конъюнктивы
$u_{cal} = 0,50 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	мазок со слизистой оболочки ротоглотки
$u_{cal} = 0,38 \leq \frac{1}{2} U_{max}(y) = 1$	отделяемое слизистой оболочки прямой кишки

И в соответствии с п. 4.1 с) ГОСТ Р ИСО 17511-2022 оцененная суммарная расширенная неопределенность измерений $U(y)$ не

превышает максимально допустимую неопределенность измерения $U_{\max}(y)$:

Оценка суммарной расширенной неопределенности измерений набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» по отношению к ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i>	Клинический материал
$U(y)=0,76 \leq U_{\max}(y)=2$	мазок со слизистой оболочки влагалища
$U(y)=0,68 \leq U_{\max}(y)=2$	соскоб из цервикального канала
$U(y)=0,78 \leq U_{\max}(y)=2$	соскоб из уретры
$U(y)=0,72 \leq U_{\max}(y)=2$	клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи
$U(y)=0,62 \leq U_{\max}(y)=2$	секрет предстательной железы
$U(y)=0,64 \leq U_{\max}(y)=2$	отделяемое конъюнктивы
$U(y)=0,50 \leq U_{\max}(y)=2$	мазок со слизистой оболочки ротоглотки
$U(y)=0,38 \leq U_{\max}(y)=2$	отделяемое слизистой оболочки прямой кишки

Иерархия калибровки СОП-КОС проведена с **первичной РМИзм, определяющей измеряемую величину** (п. 5.3 ГОСТ Р ИСО 17511-2022).

Общая иерархия калибровки с указанием неопределенности измерений на каждом этапе следующая:

Аналит	Образец	Тип образца	Неопределенность измерений	Суммарная стандартная неопределенность	Расширенная суммарная неопределенность
Геномная ДНК человека, выделенная из клеточной линии U937	Вторичный СО - геномная ДНК человека, выделенная из клеточной линии U937 (производства ООО	Вторичный СО	$u_{m,3} = 0,78$	$u(y) = 0,78$	$U(y) = 1,56$

	“СибЭнзайм”, Россия)				
	СОП-КОС	Рабочий калибратор	$u_{p.4} = 0,1$		

Приписанная концентрация рабочего калибратора **СОП-КОС** составляет 1000 копий/мкл.

4.2.7 Биологические референтные интервалы

В результате тестирования здоровой референтной популяции получен референтный интервал: «ДНК *Chlamydia trachomatis* не обнаружена или меньше предела обнаружения».

4.3 Характеристики клинической эффективности

Для проведения клинических испытаний было использовано 228 образцов клинического материала (мазки со слизистой оболочки влагалища – 39, соскобы из цервикального канала – 30, соскобы из уретры – 35, клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи – 31, секрет предстательной железы – 26, отделяемое конъюнктивы глаза – 23, мазки со слизистой оболочки ротоглотки – 20, отделяемое слизистой оболочки прямой кишки – 24), от пациентов с клиническими и/или лабораторными признаками воспалительного процесса органов урогенитального тракта, кишечника, ротоглотки, глаз, а также при подозрениях на инфицирование, которые были получены из банка остаточных аликвот, сформированного в процессе рутинной лечебно-диагностической практики.

Для проведения дополнительных клинических испытаний набором реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» модели «Chlamy-T-test-Lyo» с использованием Комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" было использовано 179 образцов клинического материала, положительного по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis* (мазки со слизистой оболочки влагалища - 32, соскобы из цервикального канала - 28, соскобы из уретры - 30, клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи - 27, отделяемое конъюнктивы глаза - 20, мазки со слизистой оболочки ротоглотки - 20, отделяемое слизистой оболочки прямой кишки – 22), от пациентов с клиническими и/или лабораторными признаками воспалительного процесса органов урогенитального тракта,

кишечника, ротоглотки, глаз, а также при подозрениях на инфицирование, которые были получены из банка остаточных аликвот, сформированного в процессе рутинной лечебно-диагностической практики.

Также проведены дополнительные клинические исследования на 90 образцах клинического материала, отрицательного по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis*, отобранных из банка остаточных аликвот, сформированного в процессе рутинной лечебно-диагностической практики.

Такое количество образцов было набрано в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 51352-2013 и с учетом рекомендаций Международного руководства CLSI EP09-A3.

Каждый исследуемый клинический образец был протестирован в двух сериях с помощью исследуемого набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» и полученные данные сравнивались с результатами, полученными с помощью зарегистрированного набора сравнения.

Свидетельством правильности работы исследуемого медицинского изделия было совпадение результатов.

Для проведения ПЦР-исследования набором реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» использовали амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- CFX96 (BioRad, США, РУ № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016),
- «ДТпрайм» (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, РУ № ФСР 2011/10229 от 03.03.2011),
- QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd., Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446 от 06.06.2019),
- FLUORITE (Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2022/16415 от 04.04.2024),
- LOCUS Intero (Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2024/22132 от 04.03.2024).

Воспроизводимость результатов для всех использованных амплификаторов 100 %.

Доверительные интервалы (ДИ) диагностических характеристик были рассчитаны по методу Клоппера и Пирсона (Clopper-Pearson Confidence Interval; Clopper, C., & Pearson, E. (1934). The Use of Confidence or Fiducial Limits Illustrated in the Case of the

Binomial. Biometrika, 26(4), 404-413. doi:10.2307/2331986).

Диагностические характеристики испытуемого набора были рассчитаны с доверительной вероятностью 95 %.

Результаты изучения диагностических характеристик по образцам клинического материала набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» следующие:

Вид исследуемого материала	Количество наблюдений с положительными пробами	Количество наблюдений с отрицательными пробами	Диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95 %	Диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95 %
мазок со слизистой оболочки влагалища	142	672	100% (95% ДИ: 97,44%-100%)	100% (95% ДИ: 99,45%-100%)
соскоб из цервикального канала	116	698	100% (95% ДИ: 96,87%-100%)	100% (95% ДИ: 99,47%-100%)
соскоб из уретры	130	684	100% (95% ДИ: 97,2%-100%)	100% (95% ДИ: 99,46%-100%)
клеточный осадок первой порции свободно выпущенной мочи	116	698	100% (95% ДИ: 96,87%-100%)	100% (95% ДИ: 99,47%-100%)
секрет предстательной железы	52	404	100% (95% ДИ: 93,15%-100%)	100% (95% ДИ: 99,09%-100%)
отделяемое конъюнктивы глаза	64	750	100% (95% ДИ: 94,4%-100%)	100% (95% ДИ: 99,51%-100%)
мазок со слизистой оболочки ротоглотки	80	734	100% (95% ДИ: 95,49%-100%)	100% (95% ДИ: 99,5%-100%)
отделяемое слизистой оболочки прямой кишки	68	746	100% (95% ДИ: 94,72%-100%)	100% (95% ДИ: 99,51%-100%)

Результаты изучения диагностических характеристик по отношению к ДНК *Chlamydia trachomatis* набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» следующие:

Исследуемый анализ	Количество наблюдений с положительными	Количество наблюдений с отрицательными	Диагностическая чувствительность с доверительной	Диагностическая специфичность с доверительной
--------------------	--	--	--	---

	ми пробами	ми пробами	вероятностью 95 %	вероятностью 95 %
ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i>	814	90	100% (95% ДИ:99,55%-100%)	100% (95% ДИ:97,97%-100%)

5. Контроль качества

5.1. Внутренний контроль качества

5.1.1. Отрицательный и положительный контрольные образцы

Каждая постановка ПЦР должна включать отрицательный контрольный образец (ОКО) и положительный контрольный образец (ПКО). Результаты для контрольных образцов ПКО и ОКО должны соответствовать заданным критериям, указанным в разделе «11. Регистрация и интерпретация результатов».

Отрицательный контрольный образец (ОКО) тестируется и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. Образец ОКО не проходит процедуру выделения; он предназначен для контроля контаминации при работе с набором реагентов «Chlamy-T-test-Lyo».

В случае, если для ОКО получены результаты, несоответствующие указанным в таблице 10 раздела «11. Регистрация и интерпретация результатов», результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

В качестве положительного контроля используется ПКО, входящий в состав набора. При получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 10 раздела «11. Регистрация и интерпретация результатов», результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторная постановка амплификации всех исследуемых образцов и контролей. При повторном получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 10 раздела «11. Регистрация и интерпретация результатов», необходимо заменить реагенты.

5.1.2. Контроль ингибирования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено

использование КВМ (фрагмента геномной ДНК человека). Результаты тестирования КВМ должны соответствовать значениям, указанным в таблице 11 раздела «11. Регистрация и интерпретация результатов» для отрицательных исследуемых образцов». Если в исследуемых образцах, отрицательных на наличие исследуемых аналитов, не обнаружена ДНК КВМ (канал детекции HEX), то результаты исследования данных образцов считаются невалидными, требуется повторить повторно взять у пациента биоматериал и заново провести анализ.

5.1.3. 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.

5.2. 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 *Chlamydia trachomatis*.

6. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo»

В пограничную зону риска вошли опасности:

1. потеря функциональных свойств реагентов, входящих в набор, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях;
2. загрязнение материалов ингибирующими веществами;
3. контаминация реакционных смесей с образцами исследуемой ДНК содержимым из пробирки ПКО или продуктами ПЦР;
4. невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации, в следствии работы с набором неквалифицированным персоналом;
5. использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия «Набор реагентов для выделения и качественного выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*, методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Chlamy-T-test-Lyo», в моделях» является допустимым, польза от его применения превышает риск.

7. Меры предосторожности при работе с набором

Класс в зависимости от потенциального риска применения – 2б в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий, утверждаемой приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.06.2012 N 4н.

Все составные части и реагенты, входящие в состав набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

Реагенты, входящие в набор «Chlamy-T-test-Lyo», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «Chlamy-T-test-Lyo», не токсичны, поскольку готовятся путем смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

Работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность, проводят в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» от 28.01.2021 и СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Следовать рекомендациям, изложенным в МУ 287-113, МУ 1.3.256909.

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- удалять неиспользованные реактивы в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных

помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»;

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.

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

- допускать к работе с набором только специально обученный персонал (специалистов с высшим или средним специальным медицинским образованием, прошедших обучение на лицензированных курсах специализации по работе с ПБА III-IV групп патогенности и по ПЦР-диагностике);

- не использовать набор по истечении срока годности;

- избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой.

При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

В процессе эксплуатации медицинское изделие не создает опасный или потенциально опасный уровень излучения (в том числе электромагнитного, ионизирующего) при использовании по назначению.

8. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

Работа с наборами реагентов для выделения нуклеиновых кислот осуществляется в рабочей зоне 2 (для выделения нуклеиновых кислот) (МУ 1.3.2569-09).

Работа с набором реагентов для мультиплексной ПЦР осуществляется в рабочей зоне 3 (для приготовления реакций) (МУ 1.3.2569-09).

Необходимое оборудование для выделения ДНК

1. Стерильный ламинарный бокс биологической (микробиологической) безопасности II класс (например, Установка очистки и обеззараживания воздуха БОВ-001-АМС по ТУ 9451-001-21504087-2006, производства АО «АМС», Россия, № ФСР 2011/10419 от 06.10.2022 г);

2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф», поддерживающий температуру от 25 °С до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия);

3. Микроцентрифуга-вортекс для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия);

4. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» на 1,5-2 мл (например, Магнитный штатив для проведения экстракции нуклеиновых кислот для *in vitro* диагностики по ТУ 32.50.50-001-27278232-2021, производства ООО «НПФ Хеликон», РУ № РЗН 2022/16360 от 21.01.2022 г);

5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия);

6. Дозаторы переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5-10 мкл, 10-100 мкл или 20-200 мкл, 100-1000 мкл (например, Eppendorf Research Plus, Германия, РУ № ФСЗ 2011/11028 от 15.11.2011 или «Biohit», Финляндия, РУ № ФСЗ 2012/12201 от 18.05.2012);

7. Одноразовые полипропиленовые закрывающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл, свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз (например, «Axygen», США);

8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше -

16 °С (например, Холодильник комбинированный лабораторный ХЛ 250 «POZIS», ХЛ 250 1 «POZIS» по ТУ 9452 203 07503307 2012, производства АО «ПОЗИС», РУ № РЗН 2016/4043 от 03.06.2024).

Оборудование для проведения мультиплексной ПЦР:

1. Бокс биологической безопасности II и III класса защиты (например, Боксы микробиологической безопасности БМБ-II-«Ламинар-С» по ТУ 32.50.50-010-51495026-2020, производства ЗАО «Ламинарные системы», РУ № ФСР 2012/13259 от 29.07.2021 или Бокс для стерильных работ DNA/RNA UV-Cleaner Box UVC/T-M-AR, Biosan, Латвия, РУ № РЗН 2023/19369 от 18.01.2023);

2. Вортекс (например, Высокоскоростная мини-центрифуга Microspin 12, BIOSAN SIA, Латвия, РУ № ФСЗ 2011/10116 от 11.07.2011 или центрифуга-встряхиватель CM-70M, производства SIA «ELMI», Латвия, РУ № РЗН 2016/4616 от 31.05.2023);

3. Центрифуга для 96-луночных планшетов для ПЦР (например, Centrifuge 5430 Eppendorf, Германия, РУ № ФСЗ 2009/04411 от 03 июня 2009 года);

4. Дозаторы переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 2–20 мкл, 20–200 мкл, 100–1 000 мкл (например, Eppendorf Research Plus, Германия, РУ № ФСЗ 2011/11028 от 15.11.2011 или «Biohit», Финляндия, РУ № ФСЗ 2012/12201 от 18.05.2012);

5. Холодильник от 2 °С до 8 °С с морозильной камерой не выше -16 °С (например, Холодильник комбинированный лабораторный ХЛ-250 «POZIS», ХЛ-250-1 «POZIS» по ТУ 9452-203-07503307-2012, производства АО "ПОЗИС", РУ № РЗН 2016/4043 от 03.06.2024);

6. Амплификатор² с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени по каналам, соответствующим флуорофорам FAM, HEX:

- CFX96 (BioRad, США, РУ № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016),

- «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 от 24.03.2025),

² Амплификаторы должны обслуживаться, калиброваться и использоваться в соответствии с рекомендациями производителя. Использование данного набора в неоткалиброванном приборе может оказать влияние на рабочие характеристики набора реагентов.

- QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd., Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446 от 06.06.2019),
- FLUORITE (Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2022/16415 от 04.04.2024),
- LOCUS Intero (Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2024/22132 от 04.03.2024).

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free».

1. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, 100 мкл или 20 мкл (например, «Ахуген», США).
2. Отдельный халат и одноразовые перчатки без талька.
3. Емкость с дезинфицирующим раствором.
4. Штативы «рабочее место» для ПЦР-планшетов с лунками объемом 0,2 мл.

5. Набор для выделения ДНК из клинического материала при использовании модели «Chlamy-T-test-Lyo».

В качестве реагентов для выделения ДНК рекомендовано использовать:

- Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-ЭКСТРА» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия, РУ № РЗН 2021/15428 от 05.06.2023 г.

- Набор реагентов для выделения ДНК вирусов, бактерий и грибов и РНК вирусов из клинического материала человека на основе метода обратимого связывания нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц с одной промывкой «НК-ЭКСТРА-SW» по ТУ 21.20.23-040-97638376-2021, производства ООО «ТестГен», Россия, РУ № РЗН 2023/21482 от 12.04.2024 г.).

- Реагент для сбора, транспортирования и выделения ДНК из клинического материала «ДНК-ФАСТ» по ТУ 21.20.23-016-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия (регистрационное удостоверение № РЗН 2021/14885 от 27 июня 2021 года);

- Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" (Форма 4), производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, (РУ № ФСР 2010/07265 от 19.12.2024 г.).

Дополнительное оборудование для выделения ДНК (модель «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo»):

1. Магнитоперемешивающая станция для автоматического выделения нуклеиновых кислот из 96 образцов одновременно (KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) или аналогичная);

2. Пипетирующая станция пробоподготовки (Tecan серии Freedom EVO®, TECAN, Швейцария, Австрия или аналогичная);

3. Для внесения реагентов в глубоколуночные планшеты 96-DW для могут быть использованы многоканальные автоматические дозаторы переменного объема (например, «Eppendorf», Германия) или пипетирующая станция пробоподготовки (Tecan серии Freedom EVO® TECAN, Швейцария, Австрия или аналогичная);

4. Электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой.

9. Анализируемые образцы

Материалом для проведения исследования служат пробы ДНК, выделенные из клинического материала человека – мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы глаза, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки.

9.1. Процедура получения биологического материала

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2021.

Забор биологического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами III группы патогенности.

Забор материала на исследование

Соскобное отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта (цервикального канала, уретры, влагалища).

Забор материала осуществляют с помощью специальных стерильных одноразовых инструментов – уrogenитальных зондов, цитощеток или тампонов, в зависимости от источника клинического материала. После взятия клинического материала погрузить рабочую часть зонда в пробирку объемом 1,5–2,0 мл, содержащую 300–500 мкл стерильного физиологического раствора или транспортную среду, предназначенную для транспортирования и хранения образцов биоматериала для ПЦР-исследования. Если инструкция к набору реагентов предусматривает, оставить рабочую часть зонда в пробирке с транспортной средой, отломив ее в области насечки. В случае отсутствия насечки или, если оставление зонда не предусмотрено инструкцией, погрузить рабочую часть зонда в среду, и, прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращать зонд 5-10 сек., после чего зонд удалить, а пробирку плотно закрыть. Перед

проведением процедуры экстракции нуклеиновых кислот осадить капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием (1 500–3 000 g), после чего аккуратно перемешать содержимое пробирки на вортексе, избегая разбрызгивания и попадания материала на внутреннюю часть крышки.

Особенности взятия материала из уретры

Женщины накануне обследования не должны проводить туалет половых органов и спринцевание. Для получения объективного результата необходимо, чтобы исследуемый материал содержал возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи и примеси крови. Нарушение правил взятия биоматериала может привести к недостоверному результату и, вследствие этого, необходимости повторного проведения исследования. Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5–2 ч. Непосредственно перед взятием биоматериала необходимо обработать наружное отверстие уретры тампоном, который можно смочить стерильным физиологическим раствором. При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15–20 минут после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия биоматериала. В уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0–1,5 см, у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.

Особенности взятия материала из влагалища

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

Особенности взятия материала из цервикального канала

Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводят в цервикальный канал на

глубину 0,5–1,5 см. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание стенок влагалища

Ограничение метода – местное применение лекарственных препаратов, УЗИ вагинальным датчиком менее чем за 24 часа до исследования.

Моча

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве не меньше 20–30 мл в специальный сухой стерильный контейнер на 50 мл.

Предварительная обработка проб мочи

Взбалтывают контейнер с мочой. Переносят 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильные пробирки объемом 1,5 мл, центрифугируют 5 мин. при 10 000 g, при наличии большого количества солей ресуспендируют только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл и затем снова концентрируют методом центрифугирования. Используя вакуумный аспиратор с колбой-ловушкой, полностью удаляют супернатант, не захватывая осадок. К осадку добавить транспортную среду до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешать содержимое вортексированием.

Секрет предстательной железы

Перед взятием секрета простаты головка полового члена обрабатывается стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Секрет простаты берется после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. Затем из кавернозной части выдавливается простатический секрет, который собирается в стерильную емкость (сосуды с широким горлом, пробирки).

Отделяемое с конъюнктивы глаза

Взятие материала необходимо производить под местной анестезией (например, 2 капли препарата Дикаин (раствор 0,3%)). Оттянув нижнее веко, провести вращающими движениями рабочей частью зонда-тампона по конъюнктиве 4–5 раз, захватывая внутренний и внешний углы глаза. После взятия клинического материала погрузить рабочую часть зонда в пробирку объемом 1,5–2,0 мл, содержащую 300–500 мкл стерильного физиологического

раствора или транспортную среду, предназначенную для транспортирования и хранения образцов биоматериала для ПЦР-исследования, вращать 5–10 с, после чего зонд удалить, пробирку плотно закрыть.

Мазок со слизистой оболочки ротоглотки

Рабочей частью зонда-тампона провести вращательными движениями по поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия клинического материала погрузить рабочую часть зонда в пробирку объемом 1,5-2,0 мл, содержащую 300–500 мкл стерильного физиологического раствора или транспортную среду, предназначенную для транспортирования и хранения образцов биоматериала для ПЦР-исследования, вращать 5–10 с, после чего зонд удалить, пробирку плотно закрыть.

Отделяемое слизистой оболочки прямой кишки

Необходимо провести тщательный туалет области вокруг анального отверстия с водой и мылом. Ввести зонд-тампон в анальное отверстие на глубину 3–4 см. Рабочей частью зонда-тампона вращательным движением провести по поверхности боковых стенок анального (заднепроходного) канала и преддверия прямой кишки, максимально полно собирая отделяемое. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи, крови, гноя и каловых масс. Перенести зонд-тампон в пробирку с 0,5 мл транспортной среды. Погрузить рабочую часть зонда-тампона в транспортную среду и, прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращать зонд 5–10 с, после чего зонд удалить, пробирку плотно закрыть.

Условия транспортирования, хранения и утилизации исходного клинического материала:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 24 ч.
- при температуре от -18 °С до -22 °С – не более месяца.

ВНИМАНИЕ! Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие урогенитальных инфекций, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-

эпидемиологическими правилами по безопасности работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) (СанПин 3.3686-21) и действующими санитарными правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности.

Утилизация клинического материала (класс В), как чрезвычайно эпидемиологически опасных отходов, осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

9.2. Экстракция и очистка ДНК из биологического материала

Для модели «Chlamy-T-test-Lyo» рекомендуется использование следующих комплектов для экстракции:

- Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-ЭКСТРА» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия, РУ № РЗН 2021/15428 от 05.06.2023 г.

- Набор реагентов для выделения ДНК вирусов, бактерий и грибов и РНК вирусов из клинического материала человека на основе метода обратимого связывания нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц с одной промывкой «НК-ЭКСТРА-SW» по ТУ 21.20.23-040-97638376-2021, производства ООО «ТестГен», Россия, РУ № РЗН 2023/21482 от 12.04.2024 г.).

- Реагент для сбора, транспортирования и выделения ДНК из клинического материала «ДНК-ФАСТ» по ТУ 21.20.23-016-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия (регистрационное удостоверение № РЗН 2021/14885 от 27 июня 2021 года);

- Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" (Форма 4), производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, (РУ № ФСР 2010/07265 от 19.12.2024 г.).

Для модели «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo» комплект реагентов для выделения НК «NA-Extract» входит в состав набора.

Во время процедуры выделения ДНК необходимо строго

соблюдать протокол и требования инструкции применяемого набора реагентов.

Условия возможного хранения анализируемых образцов ДНК

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более суток (24 ч),
- при температуре от -18 °С до -22 °С – не более месяца,
- при температуре не выше -80 °С – не более года.

9.3. Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые будут встречаться при процедуре забора биологического материала в следующих концентрациях:

Эндогенные интерферирующие вещества:

1. Гемоглобин – 100 мг/мл;
2. Слизь (муцин) – 50 мг/мл.

Экзогенные интерферирующие вещества:

1. Хлоргексидин – 0,05 г/мл;
2. Мирамистин (бензилдиметил[3 (миристоиламино) пропил]аммония хлорида моногидрат) – 0,1 мкг/мл;
3. Клотримазол – 200 мг/мл.

На основании результатов исследования потенциально интерферирующие вещества, встречающиеся при процедуре выделения ДНК из клинического материала, оцениваемые при концентрациях, которые, как ожидается, будут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo», не оказывают влияние на результат анализа.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);
- не допускается использование образцов, загрязненных

посторонним биологическим материалом.

10. Проведение исследования

Установка, монтаж, настройка, калибровка медицинского изделия для ввода в эксплуатацию не требуется.

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free». Обязательно использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером для каждого компонента реакции.

А.1. Этап пробоподготовки совместно с «НК-ЭКСТРА»

Пробоподготовку с помощью набора реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-ЭКСТРА» можно проводить для следующих видов биоматериала: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, мазков со слизистой оболочки ротоглотки.

Пробоподготовка осуществляется в соответствии с инструкцией к набору реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-ЭКСТРА».

А.2. Этап пробоподготовки совместно с «НК-ЭКСТРА-SW»

Пробоподготовку с помощью набора реагентов для выделения ДНК вирусов, бактерий и грибов и РНК вирусов из клинического материала человека на основе метода обратимого связывания нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц с одной промывкой «НК-ЭКСТРА-SW» можно проводить для следующих видов биоматериала: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, мазков со слизистой оболочки ротоглотки.

Пробоподготовка осуществляется в соответствии с инструкцией к набору реагентов для выделения ДНК вирусов, бактерий и грибов и РНК вирусов из клинического материала

человека на основе метода обратимого связывания нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц с одной промывкой «НК-ЭКСТРА-SW».

А.3. Этап пробоподготовки совместно с «NA-Extract»

Пробоподготовку с помощью комплекта реагентов для выделения НК «NA-Extract» можно проводить для следующих видов биоматериала: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, отделяемого конъюнктивы, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки.

Расслоение или выпадение осадка не влияет на качество растворов. Если во флаконах образовался осадок или произошло расслоение, необходимо прогреть их при 70 °С и перемешать до полного растворения осадка и гомогенизации растворов.

Все компоненты набора перед использованием необходимо перемешать.

Протокол выделения ДНК ручным методом:

Для каждого исследуемого образца приготовить и промаркировать по две пробирки объемом 1,5–2,0 мл.

Добавить в каждую пробирку:

- 500 мкл буфера для связывания
- 10 мкл раствора магнитных частиц

В случае предварительного смешивания магнитных частиц с буфером для связывания, следует перенести в каждую пробирку по 510 мкл смеси буфера для связывания и магнитных частиц.

1. Внести по 100 мкл образца клинического материала в каждую пробирку, перемешать на вортексе 3–5 секунд. Для лизиса инкубировать пробирки при 70 °С в течение 5 минут, перемешивая раствор за время инкубации 1–2 раза на вортексе.

2. По завершении лизиса перенести пробирки в лабораторный штатив и инкубировать смесь для связывания ДНК при комнатной температуре в течение 10 минут, перемешивая раствор во время инкубации 2–3 раза путем переворачивания пробирок.

3. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок (обычно требуется 1–2 минуты) и удалить супернатант с помощью дозатора или аспиратора.

4. Внести в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №1, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на вортексе, сбросить капли коротким центрифугированием.

5. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок и удалить супернатант.

6. Внести в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №2, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на вортексе, сбросить капли коротким центрифугированием.

7. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и удалить супернатант.

8. Повторить пункты 6 и 7.

9. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат и инкубировать при 70 °С в течение 5 минут для просушки магнитных частиц и удаления остаточного спирта.

10. Внести в пробирки по 50 мкл элюента, используя отдельный наконечник с фильтром. Тщательно ресуспендировать магнитные частицы пипетированием, плотно закрыть крышки.

11. Инкубировать пробирки при 70 °С в течение 10 минут. Во время инкубации 2–3 раза перемешать содержимое пробирок путем осторожного взбалтывания осадка.

12. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок.

13. Перенести супернатант, содержащий выделенную ДНК, в новые пробирки. **ВНИМАНИЕ!** Отбор очищенной ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Протокол выделения ДНК автоматическим методом:

Процедура выделения ДНК Комплектом реагентов для выделения НК «NA-Extract» с помощью пипетирующих станций (например Тесан серии Freedom EVO® или аналогичные):

1. Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». Данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием;

2. Подготовить роботизированную станцию пробоподготовки в соответствии с инструкцией по ее применению;

3. Перелить подготовленные растворы из флаконов в кюветы и загрузить их на станцию в порядке, описанном в протоколе работы станции.

4. Загрузить специальные наконечники, пробирки для выполнения реакций выделения ДНК и пробирки для выделения ДНК на станцию в порядке, описанном в протоколе работы станции.

5. В программном обеспечении станции загрузить соответствующий протокол выделения для работы с набором «НК-ЭКСТРА» (файл протокола доступен по запросу).

6. Запустить процесс выполнения протокола выделения.

7. По завершении процедуры выделения ДНК извлечь из станции пробирки с выделенной ДНК.

8. Убрать из станции использованные расходные материалы, провести уборку в соответствии с инструкцией.

Процедура выделения ДНК Комплектом реагентов для выделения НК «NA-Extract» с помощью магнитоперемешивающих станций (KingFisher Flex 96 или аналогичные):

1. Перед выделением необходимо внести реагенты в глубоколоночные планшеты 96-DW по следующей схеме – см. таблицу 6.

2. Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». Данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием.

Таблица 6 – Схема внесения реагентов для автоматического выделения на магнитоперемешивающих станциях

№ планшета	Компонент	Количество компонента на 1 лунку планшета, мкл
Планшет 1	Буфер для связывания	500
	Магнитные частицы	10
Планшет 2	Раствор для промывки №1	700
Планшет 3	Раствор для промывки №2	700
Планшет 4	Раствор для промывки №2	700
Планшет 5	Элюент	50

3. Промаркировать планшеты 96-DW и внести в них реагенты согласно схеме (таблица 6). Для внесения реагентов может быть использован одноканальный или многоканальный автоматический дозатор переменного объема. Внесение реагентов может быть также выполнено с помощью автоматической станции пробоподготовки.

ВНИМАНИЕ! Каждый реагент вносится отдельным наконечником, не допускается попадание остатков одного реагента в другую.

4. Подготовить оборудование в соответствии с инструкцией по его применению.

5. Загрузить в прибор протокол выделения протокол (файл протокола доступен по запросу).

6. В лунки планшета 1 внести по 100 мкл анализируемого образца клинического материала.

7. Расставить планшеты и гребенку наконечников для магнитных стержней в соответствии с указаниями прибора и запустить процедуру выделения ДНК по загруженному протоколу работы автоматической станции.

8. По окончании работы прибора в лунках планшета 5 находится элюент, содержащий выделенную ДНК.

А.4. Этап пробоподготовки совместно с «ДНК-ФАСТ»

Пробоподготовку с помощью реагента для сбора, транспортирования и выделения ДНК из клинического материала

«ДНК-ФАСТ» можно проводить для следующих видов биоматериала: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, секрета предстательной железы, мазков со слизистой оболочки ротоглотки.

Пробоподготовка осуществляется в соответствии с инструкцией к реагенту для сбора, транспортирования и выделения ДНК из клинического материала «ДНК-ФАСТ».

А.5. Этап пробоподготовки совместно с «МАГНО-сорб»

Пробоподготовку с помощью комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала «МАГНО-сорб» можно проводить для следующих видов биоматериала: мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, клеточных осадков первой порции свободно выпущенной мочи, отделяемого конъюнктивы, мазков со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемого слизистой оболочки прямой кишки.

Пробоподготовка осуществляется в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала «МАГНО-сорб».

10.1 Подготовка компонентов набора для ПЦР

Перед приготовлением реакций необходимо произвести влажную уборку ПЦР-бокса, а также оборудования и материалов, находящихся в нем, с применением дезинфицирующих средств, пригодных для использования в ПЦР-лабораториях, включить УФ-лампу на 20-30 мин.

Перед началом работы необходимо выдержать компоненты набора при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 30 минут.

Вскрыть флакон с ПКО и добавить содержимое пробирки раствора для восстановления контрольного образца в объеме 700 мкл во флакон с лиофильным ПКО. Плотно закрыть флакон. Аккуратно перемешать, выдержать при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 15 минут, после чего вновь перемешать. После разведения хранить при температуре от -18 °С до -22 °С в течение 1 года или при

температуре от 2 °С до 8 °С в течение 1 месяца.

Вскрыть упаковку с ЛРС, с помощью канцелярского ножа или ножниц отрезать необходимое количество пробирок с ЛРС (включая контрольные образцы). Отрезать пробирки следует с покрывающей их пленкой.

Неиспользованные пробирки с ЛРС упаковать в пакет с осушителем, удалить воздух и плотно закрыть. После первого вскрытия упаковки ЛРС хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более 3 месяцев.

10.2. Процедура постановки ПЦР

А) ПЦР с использованием наборов реагентов для экстракции ДНК «НК-ЭКСТРА», «НК-ЭКСТРА-SW», «NA-Extract», «ДНК-ФАСТ» и «МАГНО-сорб».

(производится в ЗОНЕ пре-ПЦР – помещении для раскапывания реагентов и подготовки к ПЦР-амплификации)

Общий объем реакции – 20 мкл (включая лиофилизат).

ВНИМАНИЕ! Запрещено изменять объем реакции. При изменении объема чувствительность метода резко снижается!

Готовить пробирки с ЛРС необходимо согласно табл. 7.

Таблица 7 – Схема расположения пробирок с ЛРС для ПЦР

Образец 1	Образец n	ПКО	ОКО
			

1. Промаркировать пробирки с ЛРС в соответствии с протоколом (с учетом ПКО и ОКО).

2. Аккуратно удалить пленку с пробирок, следя, чтобы лиофилизированная смесь ЛРС не была удалена вместе с пленкой.

3. При внесении образцов в пробирки, необходимо осторожно растворить лиофилизированную смесь ЛРС пипетированием.

Таблица 8 – Схема внесения реактивов для образцов, подготовленных с помощью реагентов «НК-ЭКСТРА», «НК-ЭКСТРА-SW», «NA-Extract», «ДНК-ФАСТ», «МАГНО-сорб»

Образцы, подготовленные с помощью:	«НК-ЭКСТРА», «НК-ЭКСТРА-SW», «МАГНО-сорб» и «NA-Extract»		
на 1 реакцию	Исследуемый образец ДНК		17,5 мкл
	Контроли	ПКО	17,5 мкл
		ОКО (прошедший процедуру выделения ДНК)	17,5 мкл
	В пробирки для ПКО и ОКО ДНК не вносится!		
Образцы, подготовленные с помощью:	«ДНК-ФАСТ»		
на 1 реакцию	ОКО (во все пробирки)		7,5 мкл
	Исследуемый образец ДНК		10 мкл
	Контроли	ПКО	10 мкл
		ОКО	10 мкл
	В пробирки для ПКО и ОКО ДНК не вносится!		

4. Заклеить планшет (пробирки) пленкой, входящей в состав набора.

5. Для сброса капель со стенок центрифугировать пробирки в течение 15 секунд.

6. Выдержать пробирки в течение 3-5 минут для восстановления реакционной смеси при комнатной температуре.

Б) ПЦР-амплификация ДНК и гибридизационно-флуоресцентная детекция продуктов амплификации в режиме реального времени;

(производится в ЗОНЕ ПЦР – помещении для проведения ПЦР-амплификации)

1. Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в реальном времени. Рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции

флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора. Протокол ПЦР указан в таблице 9.

2. Указать количество и идентификаторы образцов, отметить расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой.

Таблица 9 – Протокол ПЦР

Стадия	Температура, °C	Время, мин:сек	Каналы детекции	Всего циклов
1	95	02:00	-	1
2	95	00:15	-	5
	64	00:20		
3	95	00:15	-	40
	64	00:20	FAM, HEX	

Внимание! В случае использования амплификатора ДТ-96 необходимо произвести настройку экспозиции измерений: FAM-500, HEX-1000.

3. Удостовериться, что в параметрах оптических измерений программы амплификации задействованы каналы детекции FAM и HEX.

4. Запустить ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала.

5. По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

11. Регистрация и интерпретация результатов

Регистрацию результатов проводят по завершении ПЦР автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора.

Рекомендации по установке пороговой линии

Для амплификаторов любых моделей пороговая линия устанавливается индивидуально для каждого канала на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контрольного образца в последнем цикле амплификации.

Интерпретация результатов выполняется по значениям Ct

каналов FAM и HEX (табл. 10-11).

Сначала оценивают прохождение реакции и значения Ct в контрольных образцах. Интерпретацию результатов в исследуемых образцах начинают только при правильном прохождении ПКО и ОКО (см. табл. 10).

Таблица 10 – Результаты исследования для отрицательного и положительного контрольных образцов

Внесенный материал	Канал, соответствующий флуорофору	
	FAM <i>Chlamydia trachomatis</i>	HEX (КВМ)
ОКО	Ct > 35 или отсутствует	Ct > 35 или отсутствует
ПКО	Ct ≤ 35	Ct ≤ 35

При получении для отрицательного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 10, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

При получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 10, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов. При повторном получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 10, необходимо заменить реагенты.

Интерпретация результатов в исследуемых образцах

Таблица 11 – Принцип интерпретации результатов

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct FAM $\leq$ 35	не учитывается	ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i> обнаружена
Ct FAM отсутствует	Ct $\leq$ 35	ДНК <i>Chlamydia trachomatis</i> не обнаружена или меньше предела обнаружения
Ct > 35 или отсутствует	Ct > 35 или отсутствует	Результат невалидный

Причиной получения невалидного результата может служить низкая концентрация ДНК, присутствие ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверное выполнение протокола анализа; несоблюдение температурного режима ПЦР и др.

В случае невалидного результата необходимо проведение повторного исследования, начиная с этапа пробоподготовки (выделения ДНК). В случае повторного получения невалидного результата заключение не выдается, и в этом случае необходимо повторное проведение взятия биоматериала у пациента.

Диагностическое значение полученного результата исследования:

Полученные результаты могут использоваться при диагностике инфекционного заболевания урогенитального тракта, кишечника, ротоглотки, глаз, вне зависимости от формы и стадии заболевания всех групп населения.

Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации в сочетании с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора

Хранение

Таблица 12 – Условия хранения набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo»

Модель	Условия хранения	Длительность	Примечание
«Chlamy-T-test-Lyo» «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo»	от 2 °С до 25 °С	12 мес.	Заморозка не допускается!

Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование

Таблица 13 – Условия транспортирования набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo»

Модель	Условия хранения	Длительность	Примечание
«Chlamy-T-test-Lyo» «Chlamy-T-test-NA-Extract-Lyo»	от 2 °С до 25 °С	12 мес.	Заморозка не допускается!

Транспортировать набор реагентов следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Для обеспечения соблюдения условий транспортирования на протяжении всего срока транспортирования набор реагентов помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Тип, объем и количество хладоэлементов, закладываемых в термоконтейнер с транспортируемыми наборами реагентов, а также объем термоконтейнера подбираются в зависимости от продолжительности и условий транспортирования.

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

Срок годности набора реагентов

До вскрытия упаковки набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

Срок годности вскрытых компонентов набора

Таблица 14 – Условия хранения и срок годности вскрытых компонентов набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo»

Модель	Условия хранения	Длительность
«Chlamy-T-test-Lyo» «Chlamy-T-test-NA- Extract-Lyo»	ПКО после восстановления, ОКО, вскрытый раствор для разведения ПКО от -22 °С до -18 °С	12 мес.
	ПКО после восстановления от 2 °С до 8 °С	1 мес.
	после вскрытия упаковки с ЛРС (пакет с замком Zip-Lock) от 2 °С до 8 °С	3 мес.
	раствор для промывки №1, раствор для промывки №2, элюент от 2 °С до 25 °С	12 мес.
	смесь «Магнитных частиц» и «Буфера для связывания» от 2 °С до 25 °С	не более 7 суток

ЛРС после восстановления - один час при соблюдении условий, препятствующих высыханию компонентов, а также контаминации посторонним биологическим материалом.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Использованное медицинское изделие и отходы, образующиеся после использования медицинского изделия, подлежат утилизации в соответствии с 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» как отходы класса Б. Упаковочные материалы и сопроводительная документация подлежат утилизации в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 как отходы класса А. Оставшиеся после выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113 (Методические указания по дезинфекции,

предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения).

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются сливом в канализацию с предварительным разбавлением реагента водопроводной водой 1:100 и вывозом остатков упаковок как производственный или бытовой мусор.

Потребительская упаковка набора реагентов «Chlamy-T-test-Lyo» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

14. Гарантийные обязательства, контакты

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора «Chlamy-T-test-Lyo» требованиям ТУ при соблюдении установленных требований к транспортированию, хранению и эксплуатации.

При возникновении претензий по качеству наборов, нежелательных событий или инцидентов направлять информацию по адресу: Общество с Ограниченной Ответственностью «ТестГен» (ООО «ТестГен»), 432072, Ульяновская обл., г. Ульяновск, Инженерный 44-й проезд, дом 9.

Юридический адрес: 119607, г. Москва, вн.тер.г муниципальный округ Раменки, Раменский бульвар, дом 1, строение 1.

Фактический адрес: 432072, Россия, Ульяновская обл., г. Ульяновск, Инженерный 44-й проезд, дом 9.

Тел.: +7 (499) 705-03-75

www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81

E-mail: help@testgen.ru

Приложение А

Обозначение	Наименование документа
ГОСТ ISO 14971-2021	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
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 ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
ГОСТ Р ЕН 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023	Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования