

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для скринингового исследования микрофлоры
урогенитального тракта у женщин
методом ПЦР в режиме реального времени

ФЕМОФЛОР® СКРИН

Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08810 от 07 июля 2016 года

Фасовка:
стандартная (S)

Каталожный номер:
R1-P804-S3/5

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для скринингового исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени

ФЕМОФЛОР® СКРИН

1 НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1** Набор реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН предназначен для выявления ДНК патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с целью оценки состояния микрофлоры урогенитального тракта у женщин методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.
- 1.2** Набор реагентов может быть использован в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Применение

Лабораторная диагностика в практике врачей акушеров-гинекологов и дерматовенерологов играет важную роль, поскольку в последнее время особенностью урогенитальных инфекций, в том числе передаваемых половым путём, является малосимптомность клинических проявлений. В результате чего, пациентки поздно обращаются к врачу, нередко уже на стадии развития осложнений со стороны репродуктивной системы.

Современный диагностический арсенал врача-клинициста наряду с традиционными методами (микроскопия и бактериологический посев) включает также и молекулярно-биологические методы, что позволяет подобрать для каждого конкретного пациента оптимальный алгоритм обследования.

Возможности этиологической диагностики возбудителей инфекций, передаваемых половым путём (ИППП), значительно расширились с появлением в клиничко-диагностических лабораториях метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), который в короткие сроки (1-2 дня)

позволяет установить наличие или отсутствие генетического материала инфекционного агента в биологическом образце, взятом непосредственно из очага инфекции.

Следующим шагом в развитии лабораторной диагностики возбудителей инфекций стало появление приборов и технологий, позволяющих учитывать результаты ПЦР в автоматическом режиме. Такой вариант ПЦР позволяет, в отличие от более ранней, «классической» версии метода, определять количество нуклеиновых кислот искомым микроорганизмов.

Качественная и количественная оценка сложных микробных сообществ становится абсолютно необходимой для диагностики дисбиотических нарушений, причиной которых являются условно-патогенные микроорганизмы, которые в небольших количествах могут присутствовать в урогенитальном тракте у здоровых женщин.

При первичном обращении пациенток, на основании только клинических симптомов врачу часто бывает трудно провести дифференциальную диагностику инфекций, вызванных возбудителями ИППП, вирусами, грибами, и дисбиотических нарушений, которые являются следствием нарушения баланса между условно-патогенными микроорганизмами и нормальной микрофлорой влагалища женщин репродуктивного возраста (лактобактериями).

Набор реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН позволяет оценить состояние микробиоценоза урогенитального тракта женщины репродуктивного возраста. Микробиоценоз оценивают путём сравнения количества нормальной микрофлоры (*Lactobacillus spp.*) с общей бактериальной массой (ОБМ). Отсутствие значимых различий между этими показателями (большая часть бактериальной массы представлена лактобактериями) свидетельствует о сохранности нормофлоры.

Значимое уменьшение количества лактобактерий относительно ОБМ, как правило, сопровождает ИППП или свидетельствует о дисбиотических нарушениях различной степени тяжести, при которых на фоне снижения

нормальной микрофлоры увеличивается количество условно-патогенных бактерий.

2.2 Принцип метода

Принцип метода ПЦР основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК в режиме реального времени с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН.

Набор реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН включает: смесь для ПЦР-амплификации, специфичную для всех бактерий (общая бактериальная масса), смесь, специфичную для лактобактерий (*Lactobacillus spp.*) и смеси, специфичные для условно- и безусловно-патогенных микроорганизмов.

Одна из пробирок содержит смесь для амплификации геномной ДНК человека (контроль взятия клинического материала (КВМ)). КВМ используется для исключения ошибок преаналитического этапа. В случае недостаточного для анализа количества забранного материала требуется повторное взятие клинического материала.

В наборе реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН в пробирки со смесью для амплификации добавлен внутренний контрольный образец (ВК), предназначенный для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации фрагментов геномов определяемых микроорганизмов, включены флуоресцентные метки Fam, Rox и Cy5. В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации внутреннего контрольного образца и контроля взятия материала, входит флуоресцентный краситель Нех (таблица 1).

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В пробирку №5 добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Rox – «Маркер». Он используется прибором как маркер определения положения стрипованных пробирок (стрипов) в плашке.

После прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера, и, если находит несовпадение, то предупреждает оператора об этом. Оператору следует либо расположить данные из каждой отдельной пробирки в соответствующем порядке вручную, либо повторить исследование данного образца.

После прохождения амплификации по показателю индикаторного цикла программно рассчитывается количество общей бакмассы, лактобактерий и каждого из условно-патогенных микроорганизмов. Для безусловно-

патогенных микроорганизмов проводится качественный анализ.

2.3 Набор рассчитан на проведение 24 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

2.4 Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки) – от 2,5 часов.

Таблица 1 - Состав стрипов ФЕМОФЛОР® СКРИН, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ про- бирки	Канал детекции				Цветовая маркировка буфера
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	Общая бактериальная масса	БК	–	–	Голубой
2	Нормофлора – <i>Lactobacillus</i> spp. ¹	БК	–	–	Бесцветный
3	<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Porphyromonas</i> spp.*	БК	–	–	
4	<i>Ureaplasma</i> (<i>urealyticum</i> + <i>parvum</i>)	БК	–	–	
5	<i>Candida</i> spp.*	КВМ	Маркер	–	
6	<i>Mycoplasma hominis</i>	БК	<i>Mycoplasma genitalium</i>	–	
7	<i>Trichomonas vaginalis</i>	БК	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
8	<i>Herpes simplex virus 2</i>	БК	<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Herpes simplex virus 1</i>	

¹ – под spp. подразумевается широкая группа микроорганизмов, которая относится к данному роду, но может не соответствовать полностью роду в его систематическом понимании.

2.5 Состав набора

Набор реагентов для скринингового исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 24 стрипа по 8 пробирок (по 20 мкл);
- раствор Таq-полимеразы MAX – 4 пробирки (по 500 мкл);
- минеральное масло – 4 пробирки (по 1,0 мл);
- положительный контрольный образец – 1 пробирка (160 мкл).

Принадлежности:

- крышки для стрипов – 24 шт.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

В случае исследования биоценозов урогенитального тракта у женщин определяется количество микроорганизмов в транспортной среде, пропорциональное общей обсемененности соответствующего биотопа.

3.1 Специфичность анализа

Список выявляемых набором микроорганизмов представлен в таблице 1.

В образцах биологического материала, содержащих ДНК выявляемого микроорганизма, во время проведения амплификации амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке.

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК выявляемого микроорганизма, при проведении амплификации экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке отсутствует.

3.2 Аналитическая чувствительность

Для всех, кроме *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1*, *Herpes simplex virus 2* – 10 000 копий/мл.

Для *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1*, *Herpes simplex virus 2* – 2 000 копий/мл.

3.3 Контроль взятия материала

В образцах биологического материала, в которых присутствует геномная ДНК человека, амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке.

В образцах биологического материала, в которых отсутствует геномная ДНК человека, при проведении амплификации экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке отсутствует.

3.4 Диагностическая чувствительность: 98-100%

3.5 Диагностическая специфичность: 100%

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением 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» и с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

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

Подготовку к проведению ПЦР следует проводить в ПЦР-боксах.

Лабораторное оборудование и принадлежности, используемые при работе с набором, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

При работе с набором реагентов «в режиме реального времени» при удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) запрещается открытие пробирок, так как это может привести к разбрызгиванию содержимого и контаминации продуктами ПЦР оборудования, реагентов и лабораторной зоны.

Обработку помещений проводят в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение одного часа.

Утилизировать неиспользованные реактивы, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты и биологический материал необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида компонентов, указанного в паспорте к набору реагентов;

- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;
- по истечению срока годности набора.

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для проведения исследования с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® СКРИН требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс;
- амплификаторы детектирующие (ДТлайт², ДТпрайм³ или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»));
- центрифуга с ускорением 13 000 g;
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуры 50 °С и 65 °С;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл;
- пробирки пластиковые объемом 1,5 мл;
- дозаторы электронные с адаптером и/или дозаторы механические переменного объема одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 0,5-10 мкл, 2,0-20 мкл, 10-100 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 200-1000 мкл;

² - только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

³ - только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

- одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз, вместимостью 1,0-20 мкл, 1,0-200 мкл, 100-1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный или транспортная среда для биопроб (ООО «НПО ДНК-Технология»);
- комплект для выделения ДНК из биологического материала (рекомендуется ПРОБА-НК-ПЛЮС или ПРОБА-ГС-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология»)).

Программное обеспечение для детектирующих амплификаторов:

- версия ПО не ниже 7.3.4.0⁴;
- файл с параметрами анализа «Femoflor.ini».

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования у женщин используют соскобы эпителиальных клеток из влагалища (заднебоковые своды), уретры, цервикального канала.

Взятие, предобработку и хранение материала проводят в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для выделения ДНК из биологического материала ПРОБА-НК-ПЛЮС или ПРОБА-ГС-ПЛЮС.

6.1 Взятие образцов урогенитальных соскобов

Взятие урогенитальных соскобов проводится стерильным одноразовым зондом в пластиковые пробирки объёмом

⁴ – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/po/>

1,5 мл с 300 мкл стерильного физиологического раствора или транспортной средой для биопроб.

6.1.1 Общие требования

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

Исследование урогенитального биоценоза методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса.

6.1.2 Материал для исследований

Решение о выборе места взятия материала для исследования (влагалище, уретра, цервикальный канал) для оценки состояния биоценоза принимает лечащий врач на основании совокупности жалоб пациента и клинической картины.

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**. Неправильное взятие может привести к невозможности получения достоверного результата и, вследствие этого, необходимости повторного взятия биоматериала.

6.2 Особенности взятия материала из влагалища

Материал должен быть взят до проведения мануального исследования. Зеркало перед манипуляцией можно смочить тёплым стерильным физиологическим раствором, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано. Соскоб берут с бокового или заднего нижнего свода влагалища.

У девочек взятие материала производят со слизистой оболочки преддверия влагалища, а в отдельных случаях – из заднего свода влагалища через гименальные кольца.

6.3 Особенности взятия материала из уретры

- перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5–2 часов;
- непосредственно перед взятием биоматериала необходимо обработать наружное отверстие уретры стерильным ватным тампоном, который можно смочить стерильным физиологическим раствором;
- при наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15–20 минут после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия биоматериала;
- в уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0–1,5 см, у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.

6.4 Особенности взятия материала из цервикального канала

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

6.5 Порядок взятия материала в пробирку с транспортной средой

6.5.1 Откройте крышку пробирки.

6.5.2 С помощью одноразового зонда сделайте соскоб эпителиальных клеток из соответствующего биотопа (влагалище, уретра, цервикальный канал).

6.5.3 Перенесите зонд с биоматериалом в пробирку с транспортной средой и тщательно прополощите его, избегая разбрызгивания жидкости.

6.5.4 Извлеките зонд из раствора, прижимая его к стенке пробирки, и удалите избыток жидкости с зонда о стенки пробирки. Использованный зонд утилизируйте.

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

6.5.5 Плотнo закройте крышку пробирки, промаркируйте пробирку.

6.6 Транспортирование и хранение исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до начала исследования не должно превышать 24 часов.

Транспортировать и хранить образцы до начала исследования при температуре от 2 °C до 8 °C.

В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

ВНИМАНИЕ! Комплект для выделения ДНК из биологического материала не входит в состав набора ФЕМОФЛОР® СКРИН.

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов. Рекомендуемые комплекты для выделения ДНК из биологического материала: ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС.

Примечание - При использовании для взятия биологического материала пробирок с реактивом ПРОБА-РАПИД выделение ДНК необходимо проводить только с использованием комплекта ПРОБА-НК-ПЛЮС.

О возможности использования других комплектов реагентов для выделения ДНК из биологического материала совместно с набором ФЕМОФЛОР® СКРИН можно узнать у представителя компании.

ВНИМАНИЕ! Независимо от используемого комплекта для выделения ДНК одновременно с выделением ДНК из

биологического материала необходимо провести через все этапы пробоподготовки отрицательный контрольный образец (в его качестве можно использовать физиологический раствор в объёме согласно инструкции к комплекту реагентов для выделения ДНК).

7.2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

7.2.1 Промаркируйте по одному стрипу, с запечатанной парафином смесью для амплификации, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

Примечание - Один стрип рассчитан на исследование одного образца.

Например, необходимо проанализировать два образца. Нужно промаркировать два стрипа для исследуемых образцов, один для «К-» и один для «К+». Общее количество стрипов — четыре (таблица 2).

Т а б л и ц а 2 - Маркировка пробирок для проведения ПЦР

Образец 1	Пробирки 1-8
Образец 2	Пробирки 1-8
«К-»	Пробирки 1-8
«К+»	Пробирки 1-8

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

7.2.3 Добавьте в каждую пробирку стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы МАХ.

7.2.4 Добавьте в каждую пробирку стрипов по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки стрипов.

7.2.5 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите в каждую пробирку стрипов для исследуемых образцов (один стрип для каждого образца), не повреждая

слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК.

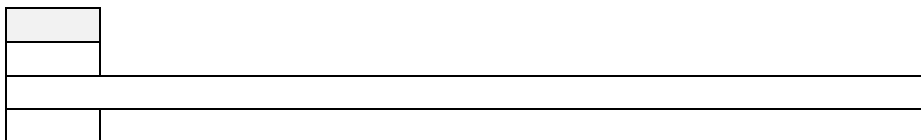
- 7.2.6 Внесите в каждую пробирку стрипа, маркированного «К-», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (7.1). Внесите в каждую пробирку стрипа, маркированного «К+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.2.7 Центрифугируйте стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.8 Установите все стрипы в блок детектирующего амплификатора. Рекомендуется располагать пробирки по центру термоблока.
- 7.2.9 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «Femoflor.ini» (7.3).

При последующих постановках добавьте в протокол тест «ФЕМОФЛОР СКРИН» (7.4.), укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (7.4.6) и проведите ПЦР.

При выборе теста «ФЕМОФЛОР СКРИН» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Таблица 3 - Программа амплификации

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	0	30	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15		√	
4	94,0	0	5	1		Цикл
5	10,0	Хранение		Хранение



7.3 Загрузка теста «ФЕМОФЛОР СКРИН» для детектирующих амплификаторов при первой постановке на данном компьютере

Версия ПО не ниже 7.3.4.0⁵.

Примечание - Для иллюстраций в настоящей инструкции использованы скриншоты версии 7.9.5.15.

Тест «ФЕМОФЛОР СКРИН» (файл Femoflor.ini) для приборов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96 предоставляется производителем набора. Его установку в программу RealTime_PCR необходимо производить в режиме «Работа с прибором» в следующем порядке:

7.3.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, который будет работать с набором ФЕМОФЛОР® СКРИН, выберите режим «Работа с прибором».

При добавлении нового оператора необходимо создать или выбрать рабочую директорию для сохранения файла с результатами.

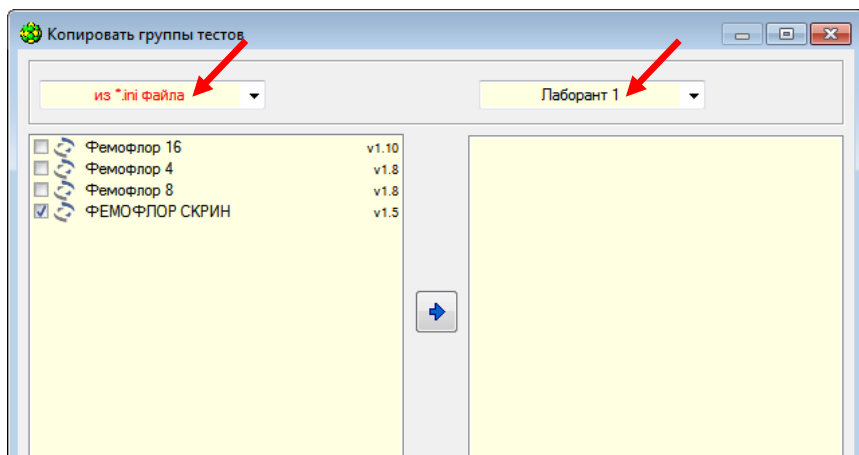
7.3.2 В меню «Тест» выберите закладку «Копировать группы тестов».




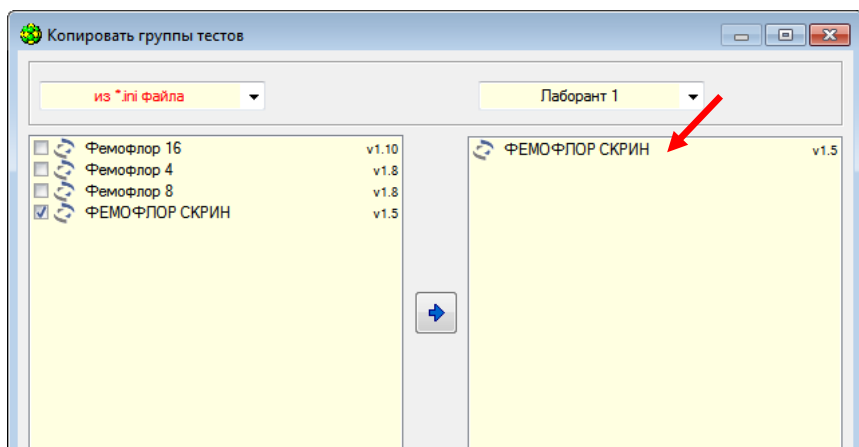
7.3.3 В левой половине окна «Копировать группы тестов» выберите строку «из *.ini файла», откройте ini файл «Femoflor.ini».

⁵ – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/po/>

- 7.3.4 В правой половине окна «Копировать группы тестов» выберите оператора, в директорию которому необходимо скопировать тест «ФЕМОФЛОР СКРИН».



- 7.3.5 Выберите тесты для копирования. Нажмите кнопку , после чего выбранный тест появится в правой половине окна.

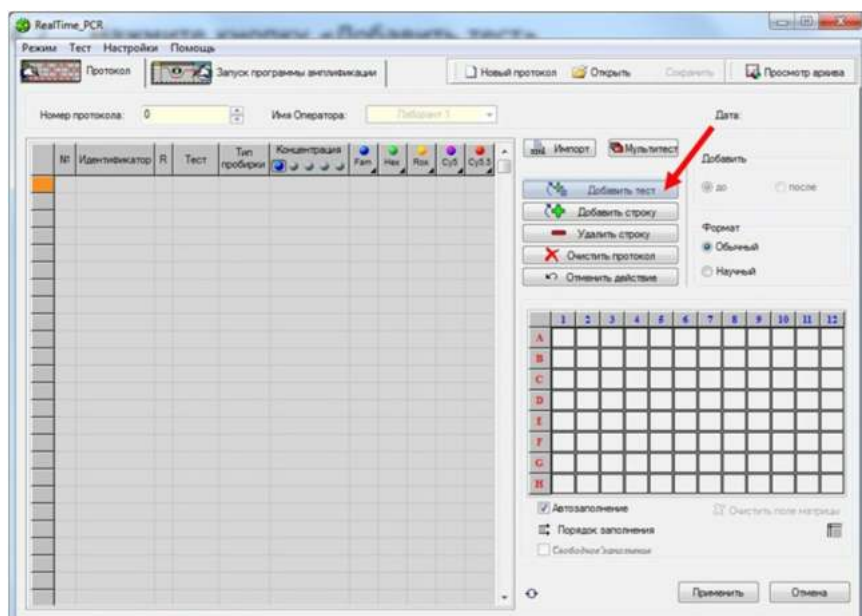


- 7.3.6 Теперь с тестом «ФЕМОФЛОР СКРИН» может работать оператор, для которого был скопирован тест.

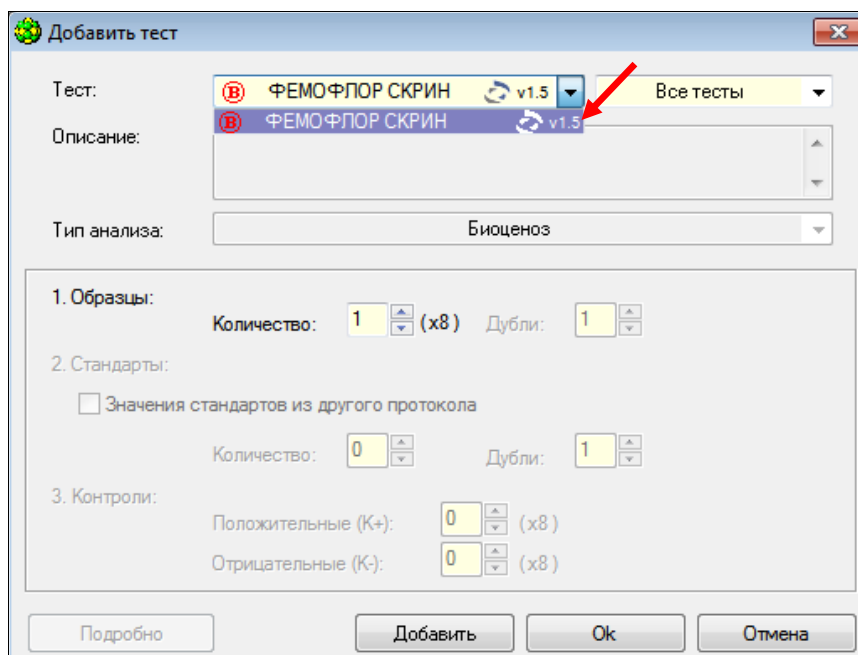
7.4 Ежедневная работа с тестом «ФЕМОФЛОР СКРИН»

- 7.4.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, для которого копировали тест (см. 7.3.4), выберите режим «Работа с прибором».

7.4.2 Нажмите кнопку «Добавить тест».



7.4.3 Выберите из списка тест «ФЕМОФЛОР СКРИН».



7.4.4 Укажите количество исследуемых образцов (положительные и отрицательные контрольные образцы следует указывать как образцы), нажмите кнопку «Ок».

Добавить тест

Тест: **ФЕМОФЛОР СКРИН** v1.5 Все тесты

Описание:

Тип анализа: Биоценоз

1. Образцы:

Количество: **4** (x8) Дубли: **1**

2. Стандарты:

☐ Значения стандартов из другого протокола

Количество: **0** Дубли: **1**

3. Контроли:

Положительные (К+): **0** (x8)

Отрицательные (К-): **0** (x8)

Подробнее Добавить Ок Отмена

7.4.5 Укажите идентификаторы пробирок.

Идентификаторы пробирок

№	Идентификатор	Тест	Fam	Hex	Rox	Суб
A1	1	Образец_1	ФЕМОФЛОР	OEM	BK	-
A2	2		Lactobacillus_spp	BK	-	-
A3	3		Gardnerella_vagin	BK	-	-
A4	4		Ureaplasma_spp	BK	-	-
A5	5		Candida_spp	KEM	Маркер	-
A6	6		Mycoplasma_hom	BK	Mycoplasma_gen	-
A7	7		Tritomonas_vag	BK	Neisseria_gonorrhChlamydia_trach	-
A8	8		HSV-2	BK	CMV	HSV-1
A9	9	Образец_2	ФЕМОФЛОР	OEM	BK	-
A10	10		Lactobacillus_spp	BK	-	-
A11	11		Gardnerella_vagin	BK	-	-
A12	12		Ureaplasma_spp	BK	-	-
B1	13		Candida_spp	KEM	Маркер	-
B2	14		Mycoplasma_hom	BK	Mycoplasma_gen	-
B3	15		Tritomonas_vag	BK	Neisseria_gonorrhChlamydia_trach	-
B4	16		HSV-2	BK	CMV	HSV-1
B5	17	Образец_3	ФЕМОФЛОР	OEM	BK	-
B6	18		Lactobacillus_spp	BK	-	-
B7	19		Gardnerella_vagin	BK	-	-
B8	20		Ureaplasma_spp	BK	-	-
B9	21		Candida_spp	KEM	Маркер	-
B10	22		Mycoplasma_hom	BK	Mycoplasma_gen	-
B11	23		Tritomonas_vag	BK	Neisseria_gonorrhChlamydia_trach	-
B12	24		HSV-2	BK	CMV	HSV-1
C1	25	Образец_4	ФЕМОФЛОР	OEM	BK	-

Добавить тест

Добавить строку

Удалить строку

Очистить протокол

Отменить действие

Формат: Обычный Научный

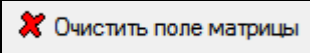
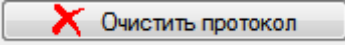
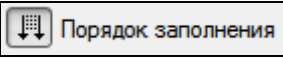
Автозаполнение

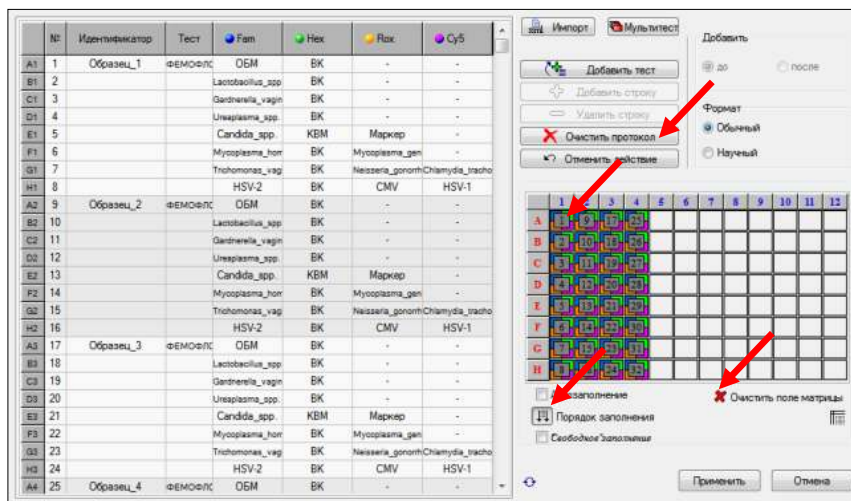
Порядок заполнения

Свободное заполнение

Очистить поле матрицы

Применить Отмена

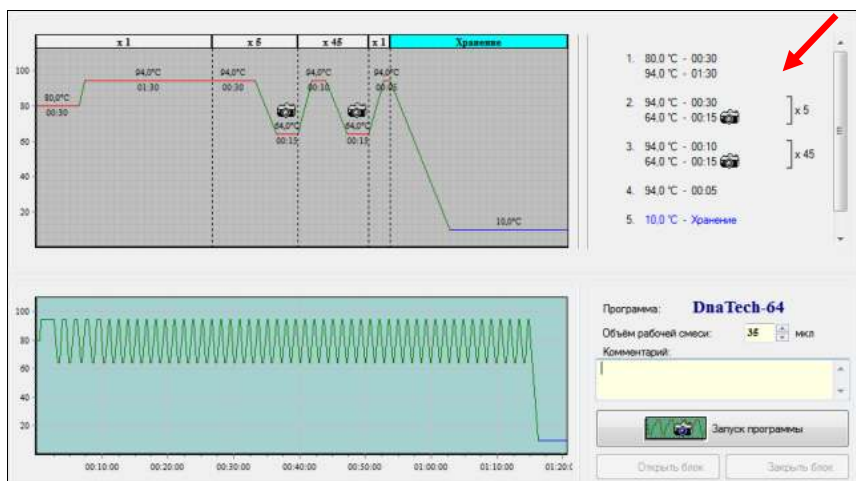
7.4.6 Отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (при ошибочном заполнении протокола нажмите кнопки «Очистить поле матрицы» или «Очистить протокол» -  или «Очистить протокол» -  и «Порядок заполнения» - ).



Если термоблок не заполнен полностью, рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой термоблока.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C			1	2	3	4	5	6	7	8		
D			9	10	11	12	13	14	15	16		
E			17	18	19	20	21	22	23	24		
F			25	26	27	28	29	30	31	32		
G												
H												

- 7.4.7 Нажмите кнопку «Применить» в правом нижнем углу окна «Протокол».
- 7.4.8 В окне «Запуск программы амплификации» будет отображена необходимая программа амплификации «DnaTech-64».



- 7.4.9 Нажмите кнопку «Запуск программы» в правом нижнем углу окна.
- 7.4.10 Укажите имя файла и директорию на компьютере для сохранения файла с результатами (по умолчанию будет предложено сохранить файл в рабочую директорию выбранного оператора (7.3.1.)).

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.


Детекция и учёт результатов осуществляется детектирующим амплификатором автоматически.


После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов оптических измерений (п. 4.6 части 1 («Работа с прибором») Руководства по эксплуатации для детектирующих амплификаторов). Анализ проводится программным обеспечением.

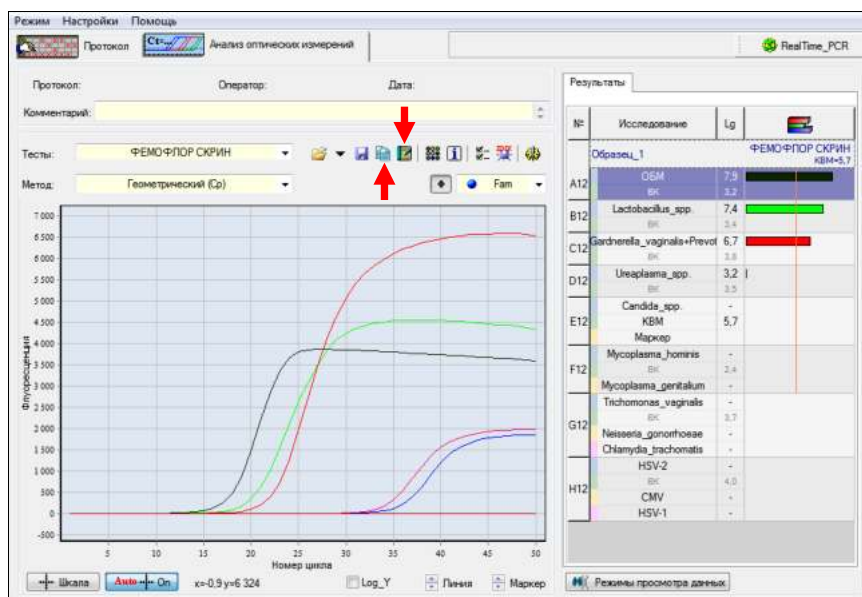
На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла для каждой пробирки в термоблоке.

В таблице справа будет показан идентификатор образца, название исследования, результат по каждому образцу (для патогенных микроорганизмов - качественный анализ, для остальных - количество и диаграмма, по которым можно судить о соотношении нормофлоры и условно-патогенных микроорганизмов в каждом из анализируемых образцов).

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

Для создания лабораторного отчёта необходимо нажать кнопку «Отчёт» .

Для создания специализированного отчёта необходимо нажать кнопку «Бланк ответа» .



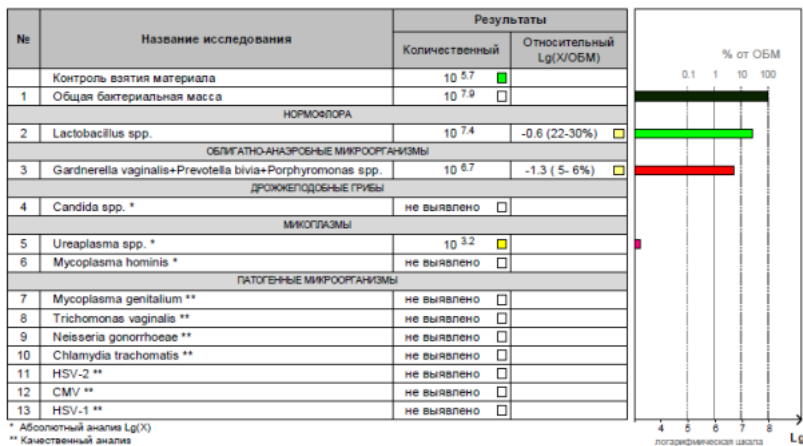
**Исследование биоценоза урогенитального тракта
ФЕМОФЛОР СКРИН**

Логотип

Дата
Номер пробы
Ф.И.О. пациента
Пол
Возраст
Организация
Врач
Примечание

Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_1



Заключение








Исследование выполнил:


Дата:
Подпись:

Примечание:
Относительный анализ применим только к образцам, полученным только при обследовании женщин репродуктивного возраста.
Лабораторное заключение не заменяет собой выставление диагноза согласно МКБ-10

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1** Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.
- 9.2** После прохождения амплификации программное обеспечение сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера (флуоресцентной метки Rox), и, если находит несовпадение, то предупреждает оператора об этом. Оператору следует либо расположить данные из каждой отдельной пробирки в соответствующем порядке вручную, либо повторить исследование данного образца.
- 9.3** При анализе результатов необходимо учитывать значения контроля взятия материала (КВМ):
- Значение КВМ меньше 4,0 следует интерпретировать как недостаточное количество материала (3.3). В этом случае требуется повторное взятие клинического материала.
- 9.4** При наличии в исследуемом образце ДНК микроорганизмов, выявляемых набором ФЕМОФЛОР® СКРИН, в строке с названием этого микроорганизма для безусловно-патогенных микроорганизмов указан результат качественного анализа («+» или «-»), для остальных – количество микроорганизма (десятичный логарифм концентрации) и гистограмма, в графическом виде отображающая количество данного микроорганизма.
- 9.5** В положительном контрольном образце должен быть зафиксирован положительный результат: десятичный логарифм концентрации или «+». При получении отрицательных значений «-», результаты всей постановочной серии считают недостоверными.
- 9.6** В отрицательном контрольном образце должен быть получен отрицательный результат «-» для специфического продукта и положительный результат для внутреннего контроля. При получении другого значения, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

Результаты			
№	Идентификатор	Lg	
<div> <div>K+</div> <div>ФЕМОФЛОР СКРИН</div> <div>KBM=4,8</div> </div>			
C3	ОЕМ	4,9	
	БК	4,4	
C4	Lactobacillus_spp.	4,9	
	БК	4,4	
C5	Gardnerella_vaginalis+Prev	5,0	
	БК	4,4	
C6	Ureaplasma_spp.	5,0	
	БК	4,5	
C7	Candida_spp.	4,7	
	KBM	4,8	
C8	Микоплазма	-	
	Mycoplasma_hominis	5,0	
C9	БК	4,3	
	Mycoplasma_genitalium	+	
C10	Trichomonas_vaginalis	+	
	БК	4,3	
C10	Neisseria_gonorrhoeae	+	
	Chlamydia_trachomatis	+	
C10	HSV-2	+	
	БК	4,3	
C10	CMV	+	
	HSV-1	+	

Результаты			
№	Идентификатор	Lg	
<div> <div>K-</div> <div>ФЕМОФЛОР СКРИН</div> <div>KBM=0,0</div> </div>			
E3	ОЕМ	-	
	БК	4,4	
E4	Lactobacillus_spp.	-	
	БК	4,6	
E5	Gardnerella_vaginalis+Prev	-	
	БК	4,4	
E6	Ureaplasma_spp.	-	
	БК	4,7	
E7	Candida_spp.	-	
	KBM	-	
E8	Микоплазма	-	
	Mycoplasma_hominis	-	
E9	БК	4,7	
	Mycoplasma_genitalium	-	
E10	Trichomonas_vaginalis	-	
	БК	4,4	
E10	Neisseria_gonorrhoeae	-	
	Chlamydia_trachomatis	-	
E10	HSV-2	-	
	БК	4,4	
E10	CMV	-	
	HSV-1	-	

10 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения компонентов, входящих в состав набора.

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

10.2 Хранение

10.2.1 Все компоненты набора реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

10.2.2 Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора.

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

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.3.2 После вскрытия упаковки компоненты набора следует хранить при следующих условиях:

- компоненты набора следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора;
- смеси, запечатанные парафином, следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора.

10.3.3 Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

11.2 Упаковка набора относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для скринингового исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени (ФЕМОФЛОР® СКРИН), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, Россия, г. Москва, вн. тер. г. муниципальный округ Чертаново Северное, ш. Варшавское, д. 125Ж, к. 5, этаж 1, пом. 12, тел./факс +7 (495) 640-17-71.

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:

http://www.dna-technology.ru/customer_support/

Адрес производителя:

ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская область, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Место производства:

Код изготовителя указан на этикетке (см. последнюю цифру в серии набора):

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

Приложение А (справочное)

Символы, используемые при маркировке набора

	Только для in vitro диагностики
	Температурный диапазон
	Количество определений
	Годен до
	Серия набора
	Дата производства
	Содержит инструкцию по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Не допускается воздействие солнечного света

Номер 163-8
2021-06-21

ООО «ДНК-Технология»
117587, Россия, г. Москва,
вн. тер. г. муниципальный округ Чертаново Северное,
ш. Варшавское, д. 125Ж, к. 5, этаж 1, пом. 12
Тел./факс +7 (495) 640-17-71
Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный)
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru