

# ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов  
для одновременного выявления ДНК вируса  
простого герпеса (*HSV*) и цитомегаловируса (*CMV*)  
в клиническом материале методом полимеразной  
цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-  
флуоресцентной детекцией

**«АмплиСенс® *HSV / CMV*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL»**

**АмплиСенс®**



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
Российская Федерация, 111123,  
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3А



Только для исследовательских и  
иных немедицинских целей

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ .....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА .....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ .....	4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ .....	4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	6
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ..	10
ФОРМАТ FEP .....	12
СОСТАВ .....	12
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....	12
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	13
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ .....	13
А. Подготовка пробирок для амплификации .....	13
Б. Проведение амплификации.....	14
ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ПРОДУКТОВ АМПЛИФИКАЦИИ ПО «КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ».....	15
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	15
ФОРМАТ FRT .....	18
СОСТАВ .....	18
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....	18
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	19
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» .....	19
А. Подготовка пробирок для амплификации .....	19
А1. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT .....	19
А2. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплектов реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F и FRT-1000 F.....	20
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» ..	21
АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	21
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	24
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ .....	24
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	25

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

В–	- отрицательный контроль экстракции
ВКО-FL	- внутренний контрольный образец для наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией
ГЭ	- геномные эквиваленты микроорганизма
ИППП	- инфекции, передаваемые половым путем
К+	- положительный контроль ПЦР
К–	- отрицательный контроль ПЦР
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПКО	- положительный контрольный образец
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
FEP	- флуоресцентная детекция по «конечной точке»
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиСенс® HSV / CMV-МУЛЬТИПРАЙМ-FL», далее – набор реагентов, предназначен для одновременного выявления ДНК вируса простого герпеса (HSV) и цитомегаловируса (CMV) путем амплификации специфических фрагментов ДНК данных микроорганизмов методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, полученные путем экстракции ДНК из соскобного отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта, прямой кишки, ротовой полости, образцов мочи, слюны, секрета предстательной железы, цельной крови и ликвора, отделяемого пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек человека.

## Показания и противопоказания к применению набора реагентов

Набор реагентов используется для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на герпесвирусную или цитомегаловирусную инфекцию вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

## **ПРИНЦИП МЕТОДА**

Выявление вируса простого герпеса и цитомегаловируса методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией включает в себя два этапа: экстракцию ДНК из образцов клинического материала и амплификацию участков ДНК данных микроорганизмов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, которая производится либо непосредственно в ходе ПЦР (формат FRT), либо после ее завершения (формат FEP). Экстракция ДНК из клинического материала проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-FL), который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Затем с полученными пробами ДНК проводится реакция одновременной амплификации участков ДНК *HSV* и *CMV* при помощи специфичных к каждому из них праймеров и фермента Таq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. К олигонуклеотидным зондам, специфичным к различным ДНК-мишеням, прикреплены различные флуоресцентные метки. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации каждой ДНК-мишени путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала по соответствующему каналу. Детекция флуоресцентного сигнала при использовании формата FEP осуществляется после окончания ПЦР с помощью флуоресцентного ПЦР-детектора, а при использовании формата FRT – непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

## **ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ**

**Форма 1:** «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,5 мл).

**Форма 2:** «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,2 мл).

**Форма 3:** «ПЦР-комплект» вариант FRT.

**Форма 4:** «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

Форма 1: **REF** V60-100-R0,5-FEP; Форма 2: **REF** V60-100-R0,2-FEP; Форма 3: **REF** R-V60;

Форма 4: **REF** R-V60-F(RG,iQ) / **VER** 12.04.19 / стр. 4 из 28

**Форма 5** включает наборы реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Формы 1, 2 предназначены для проведения амплификации ДНК *HSV* и *CMV* с гибридационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» и позволяют выявлять ДНК в качественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные Производителем.

Формы 3, 4 предназначены для проведения амплификации ДНК *HSV* и *CMV* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и позволяют выявлять ДНК в качественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные Производителем.

Форма 5 предназначена для производственных целей для последующей маркировки на языке заказчика и комплектации по наборам.

**ВНИМАНИЕ!** Форма 5 используется только в соответствии с регламентом, утвержденным ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Аналитическая чувствительность

Вид клинического материала	Набор для экстракции ДНК	Комплект для амплификации и детекции	Микро-организм	Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл <sup>1)</sup>
Соскобное отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта <sup>2)</sup>	«ДНК-сорб-АМ»	«ПЦР-комплект» варианты FEP и FRT	<i>HSV</i>	1x10 <sup>3</sup>
			<i>CMV</i>	1x10 <sup>3</sup>
Моча <sup>3)</sup>	«ДНК-сорб-АМ»	«ПЦР-комплект» варианты FEP и FRT	<i>HSV</i>	Не используется
			<i>CMV</i>	2x10 <sup>3</sup>

<sup>1)</sup> Количество геномных эквивалентов микроорганизма (ГЭ) в 1 мл образца клинического материала, помещенного в указанную транспортную среду.

<sup>2)</sup> Соскобное отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта, помещенное в «Транспортную среду для мазков» или «Транспортную среду с муколитиком (TCM)».

<sup>3)</sup> Требуется предобработка образцов мочи.

Аналитическая чувствительность в отношении каждого из микроорганизмов сохраняется и в присутствии высоких концентраций ДНК второго из анализируемых микроорганизмов – до  $10^9$  ГЭ/мл.

### **Аналитическая специфичность**

Специфичность набора реагентов проверялась на панели образцов ДНК следующих микроорганизмов: *EBV*; *HHV 6* и *7* типов; *HPV*; *Gardnerella vaginalis*; *Lactobacillus spp.*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pyogenes*; *Streptococcus agalactiae*; *Candida albicans*; *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma urealyticum*; *Ureaplasma parvum*; *Mycoplasma genitalium*; *Neisseria flava*; *Neisseria subflava*; *Neisseria sicca*; *Neisseria mucosa*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Chlamydia trachomatis*; *Treponema pallidum*; *Trichomonas vaginalis*; *Toxoplasma gondii*. При проведении тестирования данной панели, а также образцов ДНК человека, неспецифических реакций выявлено не было.

## **ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

(Не для медицинских целей)

### **Диагностическая чувствительность**

Диагностическая чувствительность набора составляет 91-100 % с доверительной вероятностью 90 %.

### **Диагностическая специфичность**

Диагностическая специфичность набора составляет 96-100 % с доверительной вероятностью 90 %.

## **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ**

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы

амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку<sup>4</sup>, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

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

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром<sup>5</sup>.

<sup>4</sup> Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

<sup>5</sup> Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).
- Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор строго по назначению.
- К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости и обратиться за медицинской помощью.
- При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Информационное письмо о безопасности набора реагентов доступно по запросу. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные



## последствия для организма человека

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен.

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

1. Транспортная среда – «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ТУ 9398-098-01897593-2009) или «Транспортная среда для мазков» (ТУ 9398-088-01897593-2009), или другие, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора – при работе с формами 1–4 (формат FER и формат FRT).
2. Комплект реагентов для экстракции ДНК – «ДНК-сорб-АМ» (ТУ 9398-036-01897593-2009) или другие, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора – при работе с формами 1–4 (формат FER и формат FRT).
3. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.
4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия или аналогичный).
5. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
6. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
7. Одноразовые наконечники с фильтром до 100 мкл в штативах (например, Ахуген, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
8. Штативы для пробирок объемом 0,5 мл или 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов) (например, Ахуген, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
9. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
10. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
11. Емкость для сброса наконечников.

При проведении детекции по «конечной точке» вариант FER:

12. Программируемый амплификатор (например, «Терцик» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), MaxyGene Gradient

(Axugen, Scientific Inc. («Эксиджен Саентифик, Инк»), США), и другие, рекомендованные Производителем.

13. Флуоресцентный ПЦР-детектор (например, ALA-1/4 (SIA BioSan, Латвия), «Джин-4» («ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) и другие, рекомендованные Производителем).

При проведении детекции в режиме «реального времени» вариант FRT:

14. Одноразовые полипропиленовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл или 0,1 мл – при работе с «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F:

а) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с круглой или плоской оптически прозрачной крышкой (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками (например QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия, или аналогичные) – при использовании прибора планшетного типа;

б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США или аналогичные) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene, объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия, или аналогичные) – при использовании прибора роторного типа.

15. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий 3 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США) и другие, рекомендованные Производителем).

## **ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА**

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2012 г.

Материалом для исследования служат соскобное отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта, прямой кишки, ротовой полости, образцы мочи (осадок первой порции утренней мочи), слюны, секрета предстательной железы, образцы цельной крови и ликвора, отделяемое пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек человека.

**ФОРМАТ FEP  
СОСТАВ**

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP** – комплект реагентов для амплификации фрагментов ДНК *HSV* и *CMV* с гибридационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Количество</i>
<b>ПЦР-смесь-1-FL HSV / CMV</b> раскапана под воск	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,01	110 пробирок объемом 0,5 или 0,2 мл
<b>ПЦР-смесь-2-FL-red</b>	Прозрачная жидкость красного цвета	1,1	1 пробирка
<b>ПЦР-смесь-Фон-red<sup>6</sup></b>	Прозрачная жидкость красного цвета	0,6	1 пробирка
<b>Минеральное масло для ПЦР<sup>7</sup></b>	Бесцветная вязкая жидкость	4,0	1 флакон
<b>ПКО комплексный</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
<b>ДНК-буфер</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли.

**ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ**

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых (клинических) образцов;
- амплификация;
- флуоресцентная детекция продуктов амплификации по «конечной точке»;
- интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от используемого оборудования изложена в методических рекомендациях ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией».

<sup>6</sup> Реагент используется при исследовании проб ДНК, выделенных с помощью наборов «ДНК-сорб-АМ» или «ДНК-сорб-В».

<sup>7</sup> Реагент используется при применении амплификаторов без термостатируемой крышки (например, «Терцик», «ДНК-Технология», Россия).

## **ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

Для экстракции ДНК используются наборы реагентов, рекомендованные Производителем, согласно инструкции к соответствующему комплекту для экстракции. Экстракция ДНК из каждого клинического образца проводится в присутствии внутреннего контрольного образца – ВКО-FL.

## **АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ ПО «КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ»**

**Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора.**

**Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.**

### **А. Подготовка пробирок для амплификации**

**Общий объем реакционной смеси – 30 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-FL HSV/CMV** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
2. В пробирки с **ПЦР-смесью-1-FL HSV/CMV** на поверхность застывшего воска внести по **10 мкл ПЦР-смеси-2-FL-red**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с **ПЦР-смесью-1-FL HSV/CMV**.
3. Сверху добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (при использовании амплификатора без термостатируемой крышки).
4. Приготовить образец «Фон». Для этого в пробирку с **ПЦР-смесью-1-FL HSV/CMV** на поверхность застывшего воска внести **20 мкл ПЦР-смеси-Фон-red**. Сверху добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (при использовании амплификатора без термостатируемой крышки).

**ВНИМАНИЕ!** Реагент **ПЦР-смесь-Фон-red** используется при исследовании проб ДНК, экстрагированных с помощью комплектов «ДНК-сорб-АМ» или «ДНК-сорб-В». При использовании других комплектов реагентов для экстракции ДНК, рекомендованных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, необходимо следовать инструкции к используемому набору.

5. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных путем экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
6. Поставить контрольные реакции:
  - а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** –в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ДНК-буфера**;
  - б) **положительный контроль ПЦР (К+)** –в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ПКО комплексного**;
  - в) **отрицательный контроль экстракции ДНК (В–)** –в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл пробы**, экстрагированной из **ОКО**.

Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок кратковременным (1–3 с) центрифугированием с помощью вортекса.

## **Б. Проведение амплификации**

1. Запустить на амплификаторе соответствующую программу термоциклирования «**АмплиСенс-1-FEP**» (см. табл.1).
2. Когда температура в ячейках достигнет 95 °С (режим паузы), поставить пробирки в ячейки амплификатора, закрыть крышку прибора и нажать кнопку продолжения программы.

Таблица 1

**Программа «АмплиСенс-1-FEP»**

Цикл	«Терцик»			GeneAmp PCR System 2700			Gradient Palm Cycler, MaxyGene		
	Температура, °С	Время	Кол. циклов	Температура, °С	Время	Кол. циклов	Температура, °С	Время	Кол. циклов
0	<b>95</b>	Пауза		<b>95</b>	Пауза		<b>95</b>	Пауза	
1	<b>95</b>	5 мин	1	<b>95</b>	5 мин	1	<b>95</b>	5 мин	1
2	<b>95</b>	2 с	35	<b>95</b>	20 с	20	<b>95</b>	2 с	24
	<b>65</b>	5 с		<b>65</b>	25 с		<b>65</b>	10 с	
	<b>72</b>	5 с		<b>72</b>	30 с		<b>72</b>	10 с	
3	<b>95</b>	2 с	9	<b>95</b>	20 с	24	<b>95</b>	2 с	20
	<b>60</b>	10 с		<b>60</b>	30 с		<b>60</b>	15 с	
	<b>72</b>	5 с		<b>72</b>	30 с		<b>72</b>	10 с	
4	<b>95</b>	2 с	1	<b>95</b>	20 с	1	<b>95</b>	2 с	1
	<b>60</b>	10 с		<b>60</b>	30 с		<b>60</b>	15 с	
5	<b>10</b>	Хранение		<b>10</b>	Хранение		<b>10</b>	Хранение	

Примечание – Программы термоциклирования для других моделей амплификаторов описаны в методических рекомендациях «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов

репродукции методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией».

3. По окончании выполнения программы приступить к флуоресцентной детекции.

## **В. Флуоресцентная детекция продуктов амплификации по «конечной точке»**

Детекция проводится с помощью флуоресцентного ПЦР-детектора (согласно инструкции к используемому прибору) путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала по трем каналам (см. табл. 2):

Таблица 2

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	ДНК HSV	CMV	ДНК ВКО

**ВНИМАНИЕ!** До проведения детекции в программное обеспечение ПЦР-детектора должны быть внесены и сохранены соответствующие настройки – см. вкладыш к ПЦР-комплекту, а также методические рекомендации ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией».

## **Г. Интерпретация результатов**

Результаты интерпретируются на основании данных об уровне флуоресцентного сигнала относительно фона по соответствующим каналам детекции. Интерпретация производится автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора.

- **ДНК HSV обнаружена**, если для данной пробы сигнал по каналу для флуорофора FAM выше установленного порогового значения положительного результата.
- **ДНК CMV обнаружена**, если для данной пробы сигнал по каналу для флуорофора JOE выше установленного порогового значения положительного результата.
- **ДНК HSV и CMV не обнаружены**, если для данной пробы сигнал по каналам FAM и JOE ниже установленных для этих каналов пороговых значений отрицательного результата, а

Форма 1: **REF** V60-100-R0,5-FEP; Форма 2: **REF** V60-100-R0,2-FEP; Форма 3: **REF** R-V60;

Форма 4: **REF** R-V60-F(RG,iQ) / **VER** 12.04.19 / стр. 15 из 28

сигнал по каналу для флуорофора ROX выше установленного порогового значения.

- результат анализа **невалидный**, если для данной пробы сигнал по всем трем каналам ниже установленных для этих каналов пороговых значений. Необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК.
- результат анализа **сомнительный**, если для данной пробы сигнал по каналу для флуорофора FAM или/и по каналу для флуорофора JOE выше установленного порогового значения отрицательного результата, но ниже порогового значения положительного результата (сигнал находится между пороговыми значениями). Необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК.

**ВНИМАНИЕ!** Пороговые значения флуоресцентных сигналов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

**Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК, в соответствии с табл. 3. и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.**

Таблица 3

**Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования**

Конт-роль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Сигнал по каналам для флуорофоров FAM и HEX	Сигнал по каналу для флуорофора ROX	Обозначение результата в программах некоторых детекторов
В-	Экстракция ДНК	Ниже порогового значения отрицательного результата	Выше порогового значения	«-»
К-	ПЦР	Ниже порогового значения отрицательного результата	Ниже порогового значения	«нд»
К+	ПЦР	Выше порогового значения положительного результата	Выше порогового значения	«+» или «ОК»



### Возможные ошибки

1. Для положительного контроля ПЦР (К+) сигнал флуоресценции по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE ниже порогового значения положительного результата. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, для которых, соответственно, сигнал по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE ниже порогового значения положительного результата.
2. Для отрицательного контроля экстракции ДНК (В-) и/или отрицательного контроля ПЦР (К-) сигнал флуоресценции по каналам для флуорофоров FAM или/и JOE выше порогового значения положительного результата. Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, для которых, соответственно, сигнал по каналам для флуорофоров FAM или/и JOE выше порогового значения положительного результата.

**ФОРМАТ FRT  
СОСТАВ**

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT** – комплект реагентов для амплификации фрагментов ДНК *HSV* и *CMV* с гибридным флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Количество</i>
<b>ПЦР-смесь-1-FL HSV / CMV</b> раскапана под воск	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,01	110 пробирок объемом 0,2 мл
<b>ПЦР-смесь-2-FL-red</b>	Прозрачная жидкость красного цвета	1,1	1 пробирка
<b>ПКО комплексный</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
<b>ДНК-буфер</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли.

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F** – комплект реагентов для амплификации фрагментов ДНК *HSV* и *CMV* с гибридным флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Количество</i>
<b>ПЦР-смесь-1-FL HSV / CMV</b>	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	1,2	1 пробирка
<b>ПЦР-смесь-2-FRT</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	2 пробирки
<b>Полимераза (TaqF)</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	2 пробирки
<b>ПКО комплексный</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
<b>ДНК-буфер</b>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли.

**ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ**

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых образцов;
- амплификация с гибридным флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»;
- анализ и интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от используемого оборудования изложена в методических рекомендациях ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией».

## **ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

Для экстракции ДНК используются наборы реагентов, рекомендованные Производителем, согласно инструкции к соответствующему комплекту для экстракции. Экстракцию ДНК из каждого клинического образца проводится в присутствии внутреннего контрольного образца – ВКО-FL.

## **АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»**

Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

### **А. Подготовка пробирок для амплификации**

#### **А1. Подготовка пробирок для амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT**

**Общий объем реакционной смеси – 30 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-FL HSV / CMV** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
2. На поверхность воска внести по **10 мкл ПЦР-смеси-2-FL-red**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с **ПЦР-смесью-1-FL HSV / CMV**.
3. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
4. Поставить контрольные реакции:

- а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ДНК-буфера**.
- б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ПКО комплексного**.
- в) **отрицательный контроль экстракции ДНК (В–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл пробы**, выделенной из **ОКО**.

## **А2. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F**

**Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Разморозить пробирку с **ПЦР-смесью-2-FRT**. Перемешать содержимое пробирок с реагентами **ПЦР-смесь-1-FL HSV / CMV**, **ПЦР-смесь-2-FRT**, **полимераза (TaqF)** и осадить капли кратковременным центрифугированием (1–2 с) с помощью вортекса.
2. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
3. Для проведения N реакций (включая 2 контроля ПЦР) смешать в отдельной пробирке  $10 \cdot (N+1)$  мкл **ПЦР-смеси-1-FL HSV / CMV**,  $5,0 \cdot (N+1)$  мкл **ПЦР-смеси-2-FRT** и  $0,5 \cdot (N+1)$  мкл **полимеразы (TaqF)**.
4. Перемешать подготовленную смесь и осадить капли кратковременным центрифугированием с помощью вортекса (1–2 с).
5. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** подготовленной смеси.
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
7. Поставить контрольные реакции:
  - а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ДНК-буфера**;
  - б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл ПКО комплексного**;
  - в) **отрицательный контроль экстракции ДНК (В–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл пробы**, выделенной из **ОКО**.

**Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»**

1. Запрограммировать прибор (амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени») для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс-1М» (см. табл. 4).

Таблица 4

**Программа «АмплиСенс-1М»**

Цикл	Приборы роторного типа <sup>8</sup>			Приборы планшетного типа <sup>9</sup>		
	Температура, °С	Время	Число повторов циклов	Температура, °С	Время	Число повторов циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	20 с	5	95	20 с	5
	60	20 с		60	20 с	
	72	15 с		72	15 с	
3	95	20 с	40	95	20 с	40
	60	20 с детекция флуоресц.сигнала		60	30 с детекция флуоресц.сигнала	
		72			15 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по трем каналам – для флуорофоров FAM, JOE и ROX (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам).

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.
3. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

**В. АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Анализ полученных результатов поводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по трем каналам (см.табл.5):

<sup>8</sup> Например, Rotor-Gene Q (QIAGEN) и другие рекомендованные Производителем.

<sup>9</sup> Например, CFX 96 (Bio-Rad) и другие рекомендованные Производителем.

Форма 1: **REF** V60-100-R0,5-FEP; Форма 2: **REF** V60-100-R0,2-FEP; Форма 3: **REF** R-V60;

Таблица 5

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	ДНК HSV	ДНК CMV	ДНК ВКО

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла ( $C_t$ ) в соответствующей графе таблицы результатов.

Принцип интерпретации результатов следующий:

- **ДНК HSV обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора FAM определено значение  $C_t$ . При этом кривая флуоресценции данной пробы должна однократно пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.
- **ДНК CMV обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE определено значение  $C_t$ . При этом кривая флуоресценции данной пробы должна однократно пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции;
- **ДНК HSV и CMV не обнаружены**, если для данной пробы в таблице результатов, соответственно, по каналам для флуорофоров FAM и JOE не определено (отсутствует) значение  $C_t$  (кривая флуоресценции не пересекает пороговую линию), а в таблице результатов по каналу для флуорофора ROX определено значение  $C_t$ , не превышающее граничное значение;
- результат анализа **невалидный**, если для данной пробы не определено (отсутствует) значение  $C_t$  по каналу для флуорофора ROX и по каналам для флуорофоров FAM и JOE. Необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК.

**ВНИМАНИЕ!** Граничные значения  $C_t$  указаны во вкладыше к ПЦР-комплекту. См. также методические рекомендации ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и

других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией».

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК, в соответствии с таблицей оценки результатов контрольных реакций (табл. 6) и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 6

**Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования**

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Значение порогового цикла, <i>Ct</i>	
		по каналам для флуорофоров FAM, JOE	по каналу для флуорофора ROX
B-	Экстракция ДНК	Значение отсутствует	Определено значение меньше граничного
K-	ПЦР	Значение отсутствует	Значение отсутствует
K+	ПЦР	Определено значение меньше граничного	Определено значение меньше граничного

**Возможные ошибки:**

1. Для положительного контроля ПЦР (K+) значение порогового цикла (*Ct*) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию для всех образцов, для которых отсутствует значение порогового цикла, соответственно, по каналам FAM и/или JOE.
2. Для отрицательного контроля экстракции ДНК (B-) и/или отрицательного контроля ПЦР (K-) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE определено значение порогового цикла (*Ct*). Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, для которых определено значение *Ct*, соответственно, по каналам FAM и/или JOE.

## **СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ**

**Срок годности.** 9 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

**Транспортирование.** Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F при получении разуконтировать в соответствии с указанными температурами хранения.

**Хранение.** Набор реагентов хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С. ПЦР-смесь-1-FL HSV / CMV хранить в защищенном от света месте. ПЦР-смесь-2-FRT и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С.

## **ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ**

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

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: cs@pcr.ru<sup>10</sup>.

---

<sup>10</sup> Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: [www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru).



## СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Код партии		Использовать до
	Только для исследовательских и иных немедицинских целей		Обратитесь к инструкции по применению
	Дата изменения		Не допускать воздействия солнечного света
	Изготовитель		Дата изготовления
	Температурный диапазон		

Лист вносимых изменений

Редакция	Место внесения изменений	Суть вносимых изменений
09.08.11 VV	По тексту	Добавлен раздел «Символы, используемые в печатной продукции»
		Изменено название института на ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
		«Вариант FEP» исправлен на «формат FEP» «Вариант FRT» исправлен на «формат FRT»
		Исправления по шаблону
	Форма комплектации формат FEP и формат FRT	Добавлена форма 8 – комплектация наборов оптом
	Меры предосторожности	СП 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений» исправлены на СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»
		МУ 1.3.1888-04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III–IV групп патогенности» исправлены на МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».
	Срок годности. Условия транспортирования и хранения	Добавлена информация о хранении вскрытых реагентов
		Удалены реквизиты ФГУН ГИСК
	Титульная страница	Добавлен символ, обозначающий «изделие для <i>in vitro</i> диагностики»
Нижний колонтитул	«Кат. №» и «дата изменения» заменены на соответствующие символы	
01.10.11 LA	Титульная страница	Добавлены символ, наименование и адрес производителя
		Символ «Изделие для <i>in vitro</i> диагностики» перемещен в правый нижний угол страницы
		Удалена информация из нижнего колонтитула
	Меры предосторожности	Таблица реагентов, подлежащих маркировке как содержащие опасные вещества, перенесена в методические рекомендации
13.01.13 IV	Нижний колонтитул	Введен новый каталожный номер для формата FRT формы 1: R-V60 вместо каталожных номеров R-V60(RG) и R-V60(iQ)
09.09.13 GA	Титульная страница	Символ <b>IVD</b> заменен символом <b>RUO</b>
	Символы, используемые в печатной продукции	

Форма 1: **REF** V60-100-R0,5-FEP; Форма 2: **REF** V60-100-R0,2-FEP; Форма 3: **REF** R-V60;

Форма 4: **REF** R-V60-F(RG,iQ) / **VER** 12.04.19 / стр. 26 из 28

20.12.13 GA	Список сокращений	Введены сокращения для ГЭ, К+, К- и В-.	
	Назначение	Уточнено, что набор реагентов предназначен для ДНК вируса простого герпеса ( <i>HSV</i> ) и цитомегаловируса ( <i>CMV</i> ) (у лиц с подозрением на герпесвирусную или цитомегаловирусную инфекцию вне зависимости от формы и стадии заболевания)	
	Назначение. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала	Удалено: «Для экстракции ДНК используются наборы реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора» согласно шаблону	
	Аналитическая специфичность	Расширен список микроорганизмов, на которых проверялась специфичность набора	
	Диагностические характеристики	Добавлен новый раздел с диагностической чувствительностью и диагностической специфичностью	
	По тексту	Правки по шаблону	
		Названия каналов прописаны как «каналы для флуорофоров»	
Символы используемые в печатной продукции	Удален символ «Осторожно! Обратитесь к сопроводительной документации»		
27.01.15 PM	Титульный лист	Для символа <b>RUO</b> добавлена надпись «Только для научно-исследовательских целей»	
	Символы, используемые в печатной продукции	Для символа <b>RUO</b> изменена фраза с «Только для исследовательских целей» на «Только для научно-исследовательских целей»	
	Срок годности. Условия транспортирования и хранения	Изменен адресат для направления рекламаций	
04.02.15 BS	Назначение	Удалено: «ВНИМАНИЕ! Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания»	
	Титульный лист Символы, используемые в печатной продукции	Для символа <b>RUO</b> изменена надпись «Только для научно-исследовательских целей» на «Только для исследовательских и иных немедицинских целей»	
06.02.15 ChA	Диагностические характеристики	Добавлена фраза «Не для медицинских целей»	
11.07.17 TA	–	Внесены правки по шаблону на титульном листе, в разделах: Назначение, Формы комплектации, Меры предосторожности и сведения об утилизации, Гарантийные обязательства производителя, Символы, используемые в печатной продукции.	
	Состав. Формат FRT	Изменена программа «Амплиценс-1М» для приборов роторного и планшетного типа	
18.08.17 TA	Формы комплектации	Удалены формы комплектации формат FEP с 3 по 8, формат FRT с 3 по 8; внесены правки по шаблону	
	Дополнительные материалы и оборудование	Внесены правки по шаблону	

	Формат FEP. Состав	Удалены комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, Транспортная среда с муколитиком (ТСМ), Транспортная среда для мазков, «ПЦР-комплект» вариант FEP-1000; внесены правки по шаблону; добавлена таблица 2
	Формат FRT. Состав	Удалены комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, Транспортная среда с муколитиком (ТСМ), Транспортная среда для мазков, «ПЦР-комплект» вариант FEP-1000; внесены правки по шаблону; добавлена таблица 4
	Срок годности. Условия транспортирования и хранения.	Внесены правки по шаблону
29.12.17 PM	Состав	Уточнены цвета реагентов
12.04.19 SK	По тексту	Изменено форматирование текста