



1107 2025-08-01



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления ДНК бактерий,
вызывающих респираторные внебольничные и нозокомиальные заболевания
методом ПЦР в режиме реального времени

БакСкрин Пневмо 1

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2025/25960 от 24 июля 2025 года

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав набора реагентов.....	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	6
2.3	Принцип метода	6
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
3.1	Аналитическая специфичность	8
3.2	Интерферирующие вещества	8
3.3	Предел обнаружения	9
3.4	Диагностические характеристики.....	10
3.5	Воспроизводимость и повторяемость	12
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	13
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	15
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	17
6.1	Материал для исследования	17
6.2	Общие требования	17
6.3	Взятие материала на исследование	18
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала	19
6.5	Подготовка биологического материала человека для выделения ДНК	19
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	20
7.1	Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала	20
7.2	Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S	21
7.3	Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка A, с использованием дозирующего устройства ДТстрим	24
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	27
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	27
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ	29
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ.....	30
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ.....	30
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	30
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	31
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	32
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	33
	Приложение А.....	34
	Приложение Б.....	35
	Приложение В.....	36
	Приложение Г.....	38

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ИВ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
КВМ	- контроль взятия материала
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК)
ОБМ	- общая бактериальная масса
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РЗ	- респираторное заболевание
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКаза	- рибонуклеазы

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления ДНК бактерий, вызывающих респираторные внебольничные и нозокомиальные заболевания, методом ПЦР в режиме реального времени (БакСкрин Пневмо 1), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выявления ДНК бактерий (*Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), вызывающих респираторные внебольничные и нозокомиальные заболевания, в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота, плевральная жидкость) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования: наличие симптомов респираторного заболевания (РЗ).

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории: врач клинко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в стандартной фасовке (маркируется – фасовка S) и в фасовке для автоматизированного дозирования (маркируется – фасовка А).

2.1 Состав набора реагентов

REF R1-P032-S3/5, фасовка S, стрипы			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов	24 шт.		

REF R1-P032-XA/4, фасовка А			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации Стрим	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость	2 стрипа по 8 пробирок	по 120 мкл
ПЦР-буфер Стрим	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки	по 60 мкл
Буфер для разведения НК	Прозрачная бесцветная жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 100 мкл
Стрипы по 8 пробирок	10 шт.		

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.;
- Инструкция по применению – 1 экз.;
- Вкладыш – 1 экз.;
- Паспорт – 1 экз.

¹ – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «K+»

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов в фасовке S рассчитан на проведение 24 определений (не более 8 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Набор реагентов в фасовке А рассчитан на проведение 48 определений (одна постановка на 48 образцов или две постановки по 24 образца), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный мультиплексный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Для фасовки S «горячий» старт 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 неспецифическое связывание праймеров с ДНК-мишенью при более низких температурах. «Горячий» старт для фасовки А обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94 °С. Это исключает неспецифическое связывание праймеров с ДНК-мишенью при более низких температурах.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических продуктов амплификации. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации фрагментов геномов определяемых бактерий, включены флуоресцентные метки: Fam, Rox, Cy5. В состав ДНК-зонда, используемого для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Нех.

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции в каждой отдельной пробирке.

Для контроля расположения стрипов в термоблоке детектирующего амплификатора, в смесь для амплификации пробирки №3 добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Rox – «Маркер». Он используется прибором для определения положения стрипа в термоблоке детектирующего амплификатора. После прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение маркера с его реальным положением, и, если находит несовпадение (при неправильном расположении стрипа), то предупреждает оператора об этом несоответствии. В этом случае необходимо проверить расположение стрипов в термоблоке (первая пробирка отмечена голубым буфером) и скорректировать идентификаторы пробирок в протоколе.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок и биоматериала, необходимого для проведения исследования, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В таблице 1 приведены выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ пробирки в стрипе	Каналы детекции, выявляемые показатели				Цветовая маркировка смеси для амплификации
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	ВК	–	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Голубая
2	–	ВК	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Бесцветная или розовая
3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ВК	Маркер	–	
4	<i>Haemophilus influenzae</i>	ВК	–	–	
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	ВК	–	–	
6	<i>Legionella pneumophila</i>	ВК	–	–	
7	<i>Acinetobacter</i> spp.	ВК	–	–	
8	<i>Escherichia coli</i>	ВК	–	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов БакСкрин Пневмо 1.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК выявляемых бактерий, программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительные результаты амплификации специфических продуктов в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции¹.

В образцах биологического материала человека, не содержащих ДНК выявляемых бактерий, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательные результаты амплификации специфических продуктов в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции² и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hch.

Набор реагентов выявляет ДНК следующих бактерий:

- Класс *Bacilli*: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*;
- Класс *Chlamydia*: *Chlamydophila pneumoniae*;
- Класс *Gamma*proteobacteria: *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*;
- Класс *Mollicutes*: *Mycoplasma pneumoniae*.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждого компонента, входящего в состав набора, по отношению к другой мишени системы.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце РНК Influenza virus A(H3N2), Influenza virus A(H1N1pdm09), Influenza B virus, Human Coronavirus 229E, Human Coronavirus HKU-1, Human Coronavirus NL-63, Human Coronavirus OC-43, Human Metapneumovirus, Human Parainfluenza virus type 2, Human Parainfluenza virus type 3, Human Parainfluenza virus type 4, Human Parainfluenza virus type 1, Human Rhinovirus, MERS-CoV, Respiratory syncytial virus, SARS-CoV-2, ДНК Human Adenovirus, Human Bocavirus, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, а также ДНК человека в концентрации до $1,0 \times 10^8$ копий/мл образца.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

К ингибиторам ПЦР отнесены следующие вещества: гемоглобин и лекарственные препараты, присутствующие в образце ДНК в результате неполного удаления в процессе

¹ – положительным результатом амплификации ДНК *Staphylococcus aureus* считается значение $Cp/Cq < 35$ по каналу детекции Fam для пробирки №5; положительным результатом амплификации ДНК *Acinetobacter* spp. считается значение $Cp/Cq < 35$ по каналу детекции Fam для пробирки №7; положительным результатом амплификации ДНК *Escherichia coli* считается значение $Cp/Cq < 35$ по каналу детекции Fam для пробирки №8

² – для пробирок №№7, 8 допускается значение $Cp/Cq \geq 35$ по каналу детекции Fam

выделения ДНК из образца биоматериала, а также изопропиловый спирт и метилацетат, присутствующие в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на амплификацию лабораторных контрольных образцов и внутреннего контрольного образца составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца ДНК, изопропиловый спирт – 100 мкл/мл образца ДНК, метилацетат – 100 мкл/мл образца ДНК.

Для оценки возможной интерференции лекарственных препаратов были выбраны те, которые потенциально могут присутствовать в остаточных количествах в биологических образцах человека, взятых из соответствующих исследуемых биотопов (хлоргексидин биглюконат, Лазолван® РИНО, РИНОФЛУИМУЦИЛ®, Тизин® Классик, Спрей Тантум® Верде, Гексорал® Раствор, Беродуал®, Сальбутамол-Тева, Гриппферон® Капли назальные).

Для всех исследуемых лекарственных препаратов было показано отсутствие их влияния в концентрации до 10% в образце биоматериала.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения составляет 10 копий ДНК каждого микроорганизма на амплификационную пробирку.

Предел обнаружения микроорганизмов, выявляемых с помощью набора реагентов БакСкрин Пневмо 1, установлен путем анализа серийных разведений лабораторных контрольных образцов (ЛКО).

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации ДНК при использовании указанных наборов/комплектов реагентов для выделения НК и конечного объема элюции (разведения) выделенной ДНК:

Биоматериал	Наименование набора/комплекта для выделения ДНК	Объем полученного препарата, мкл	Предел обнаружения, копий/образец
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды ¹	ПРОБА-НК	50	100
	ПРОБА-МЧ-РАПИД	300	600
	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	300	600
	ПРОБА-НК-ПЛЮС	300	600
	ПРОБА-ОПТИМА	400	800
	ПРОБА-РАПИД	500	1000
Бронхоальвеолярный лаваж, плевральная жидкость, мокрота (при выделении из 500 мкл образца), эндотрахеальный, назофарингеальный аспират (при выделении из 1,0 мл образца)	ПРОБА-НК	50	100
	ПРОБА-НК-ПЛЮС	300	600

¹ – в качестве транспортной среды использовалась Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640

3.4 Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Патоген	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
		Значение	Значение
Мазок из носоглотки	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Мазок из ротоглотки	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Бронхоальвеолярный лаваж	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)

Вид биоматериала	Патоген	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
		Значение	Значение
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Эндотрахеальный аспират	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Назофарингеальный аспират	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)

Вид биоматериала	Патоген	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
		Значение	Значение
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Мокрота	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
Плевральная жидкость	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Legionella pneumophila</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Escherichia coli</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	<i>Acinetobacter</i> spp.	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)	100% (95% ДИ: 69,15% – 100%)
	Итого	100% (95% ДИ: 96,70% – 100%)	100% (95% ДИ: 94,87% – 100%)

3.5 Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость составляет 100%.

Повторяемость составляет 100%.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, 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», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

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

Выделение ДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Подготовку к ПЦР с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК и постановка ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР (МУ 1.3.2569-09).

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм 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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента		Указание на риски
	Фасовка S	Фасовка A	
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Нет опасных веществ	–	–
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	–	–
Минеральное масло	Нет опасных веществ	–	–
Смеси для амплификации Стрим	–	Нет опасных веществ	–
ПЦР-буфер Стрим	–	Нет опасных веществ	–
Полимераза ТехноTaq MAX	–	Нет опасных веществ	–
Буфер для разведения НК	–	Нет опасных веществ	–
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности, контакт с организмом человека исключён.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, 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

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	Фасовка A
ПЦР-бокс	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени ¹	да	да ²
микроцентрифуга-вортекс	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да	да
холодильник или холодильная камера	да	да
морозильная камера	нет	да
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	да	нет
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл	да	да
дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объём жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да
наконечники одноразовые с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да
штатив для дозаторов	да	да
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	да	нет
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения *М4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим	нет	да
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	нет	да
Устройство для запечатывания планшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология»	нет	да
центрифуга с адаптером для микропланшетов, с RCF(g) не ниже 100	нет	да
полимерная термоплёнка для запечатывания микропланшетов ПЦР	нет	да
микропланшет ПЦР 384 лунки	нет	да
транспортная среда (при необходимости), рекомендуется использовать Транспортную среду для биопроб СТОР-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640		
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости)		

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	Фасовка A
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала³, рекомендуются: – Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в формах комплектации: комплект ПРОБА-НК⁴, комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867; – Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2008/02939; – Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ) по ТУ 9398-088-46482062-2016 в комплектации ПРОБА-МЧ-РАПИД, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2017/5753; – Набор реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА-ОПТИМА) по ТУ 21.20.23-124-46482062-2021, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496; – Набор реагентов для выделения ДНК/РНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека (ПРОБА-МЧ-РАПИД II) по ТУ 21.20.23-136-46482062-2023, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2024/23205		
Примечания к таблице: ¹ – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже ² – валидирован детектирующий амплификатор «ДТпрайм» (модификация ДТпрайм *Х*), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 ³ – возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала (7.1) ⁴ – не применяется для фасовки А при интегральном способе постановки		

Набор реагентов применяется с детектирующими амплификаторами планшетного и роторного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- обеспечивается работа с объемом реакционной смеси 35 мкл (фасовка S) или 12 мкл (фасовка A);
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Rox, Cy5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *Х*») ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 (только для набора реагентов в фасовке А), далее по тексту – «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *Х*»;

- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228, далее по тексту – «ДТлайт»;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с модулем реакционным оптическим CFX96 (Optical Reaction Module CFX96), Био-Рад Лабораториз, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399, далее по тексту – CFX96.

По вопросам применения детектирующих амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокроту, плевральную жидкость.

6.2 Общие требования

- 6.2.1 Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала человека необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании собранного анамнеза и клинической картины заболевания.
- 6.2.2 Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.
- 6.2.3 При необходимости взятия мазков из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.
- 6.2.4 На этапах подготовки биоматериала используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
- 6.2.5 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, с которой идёт работа (внесение образца/реактива, удаление надсадочной жидкости), и закрывайте её после этого. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09, СанПин 3.3686-21.

Ограничение метода¹: местное применение лекарственных препаратов (спреи, капли, кремы и мази) менее чем за 24 часа до исследования. При использовании аэрозолей и других форм лекарственных препаратов для ингаляций при лечении бронхиальной астмы, материал для исследований следует брать не ранее чем через три часа после ингаляции или приёма пищи.

6.3 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Перед выделением ДНК может потребоваться подготовка образцов биологического материала (6.5).

6.3.1 Мазки из носоглотки

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонд медицинский одноразовый стерильный, РУ № РЗН 2021/13989).

Мазки берут сухим стерильным зондом, для чего зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают к низу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа.

После взятия материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте.

Плотно закройте и промаркируйте пробирку.

6.3.2 Мазки из ротоглотки

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонд медицинский одноразовый стерильный РУ № РЗН 2021/13989).

Мазки берут сухим стерильным зондом, вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки глотки.

После взятия материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте.

Плотно закройте и промаркируйте пробирку.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектam реагентов для выделения НК

6.3.3 Мокрота

Взятие материала осуществляют в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и закручивающимися крышками объемом не менее 50 мл в количестве не менее 1,0 мл.

После сбора материала флакон плотно закрывают и маркируют.

6.3.4 Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, плевральная жидкость

Взятие материала производится в одноразовые плотно закручивающиеся пробирки объемом до 50 мл. После взятия материала пробирку плотно закрывают и маркируют.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

6.4.1 Мазок из носоглотки, ротоглотки

Условия транспортирования и хранения мазков из носоглотки, ротоглотки определяются инструкциями по применению рекомендуемых наборов/комплектов реагентов для выделения ДНК (7.1) или используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

6.4.2 Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, плевральная жидкость, мокрота

Условия транспортирования и хранения образцов бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, плевральной жидкости, мокроты определяются инструкциями по применению рекомендуемых наборов/комплектов реагентов для выделения ДНК (7.1).

Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, плевральную жидкость, мокроту допускается хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 48 часов;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более одной недели

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

6.5 Подготовка биологического материала человека для выделения ДНК

Подготовка биологического материала (при необходимости) проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

При использовании для выделения НК из мокроты комплекта реагентов ПРОБА-НК предобработку мокроты следует проводить с использованием муколизина (см. инструкцию по применению комплекта реагентов ПРОБА-НК, способ 2).

ВНИМАНИЕ! В случае необходимости выявления в том же образце биологического материала нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека, в ходе подготовки мазков из носоглотки и ротоглотки, взятых в пробирку с транспортной средой, образцов бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, плевральной жидкости предварительное центрифугирование не требуется.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектам реагентов для выделения НК или используемым для транспортирования и хранения образцов транспортным средам

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала

Для выделения нуклеиновых кислот рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 2).

ВНИМАНИЕ! Комплектация ПРОБА-НК не применяется для выделения нуклеиновых кислот, если предполагается проведение ПЦР с использованием интегрального способа постановки набора реагентов БакСкрин Пневмо 1 в фасовке А.

Таблица 2 – Наборы/комплекты реагентов, рекомендованные для выделения нуклеиновых кислот для дальнейшего исследования с использованием набора реагентов БакСкрин Пневмо 1

Комплект/набор реагентов, РУ	Комплектация	Биоматериал	Минимальное количество элюата, мкл
ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС, РУ № ФСР 2010/08867	ПРОБА-НК¹, ПРОБА-НК-ПЛЮС	Мазки из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, плевральная жидкость, мокрота	50/300
	ПРОБА-НК¹, ПРОБА-НК-ПЛЮС (сокращённая методика в соответствии с Приложением В)	Мазки из носоглотки, ротоглотки	50/300
ПРОБА-МЧ, РУ № РЗН 2017/5753	ПРОБА-МЧ-РАПИД	Мазки из носоглотки, ротоглотки	300
ПРОБА-МЧ-РАПИД II, РУ № РЗН 2024/23205	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	Мазки из носоглотки, ротоглотки	300
ПРОБА-ОПТИМА, РУ № РЗН 2022/17496	ПРОБА-ОПТИМА	Мазки из носоглотки, ротоглотки	400
ПРОБА-РАПИД, РУ № ФСР 2008/02939	ПРОБА-РАПИД	Мазки из носоглотки, ротоглотки	500

Выделение нуклеиновых кислот проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора/комплекта реагентов или в соответствии с Приложением В (в случае использования комплектов реагентов ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС).

¹ – комплектация ПРОБА-НК не применяется для фасовки А при интегральном способе постановки

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением НК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения НК, в объёме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесями для амплификации.
2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте по одному стрипу со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 8 постановок при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Примечание – Один стрип рассчитан на исследование одного образца.

Пример:

Необходимо проанализировать 6 неизвестных образцов. Нужно промаркировать 6 стрипов для неизвестных образцов; один стрип для «К-» и один стрип для «К+». Общее количество стрипов – 8.

- 7.2.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.3 Добавьте в каждую пробирку промаркированных стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.
- 7.2.4 Добавьте в каждую пробирку промаркированных стрипов по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте стрипы крышками.
- 7.2.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца перед внесением в пробирку с реакционной смесью необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК и ПРОБА-НК-ПЛЮС необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать его перед внесением следующего. Необходимо закрывать стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.
- 7.2.6 Внесите в каждую пробирку соответствующих промаркированных стрипов, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В стрипы, промаркированные «К–» и «К+», ДНК не вносится.
- 7.2.7 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К–», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).
- 7.2.8 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.2.9 Центрифугируйте все стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.10 Установите все стрипы в детектирующий амплификатор.
- 7.2.11 Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:
Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.
- 7.2.12 Для детектирующего амплификатора CFX96:
Проведите ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблице 4.

¹ – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А) или предоставляется производителем набора реагентов

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка S)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

Примечание – При совместных постановках с наборами реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР производства ООО «ДНК-Технология ТС») допускается использовать общую программу амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм» и «ДТлайт» (Приложение Г).

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (фасовка S)

№ блока (Step)	Температура, °C	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	00:15	50
4	64 √	00:20	
√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам детекции (Fam, Hex, Rox, Cy5) при 64 °C			

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

7.3 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка А, с использованием дозирующего устройства ДТстрим (только для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *Х*»)

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать микропланшеты ПЦР 384 лунки, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

7.3.1 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером Стрим и полимеразой ТехноТaq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Для проведения 48 определений одновременно используются две пробирки с ПЦР-буфером Стрим и две пробирки с полимеразой ТехноТaq МАХ. Для проведения 24 определений используются одна пробирка с ПЦР-буфером Стрим и одна пробирка с полимеразой ТехноТaq МАХ.

ВНИМАНИЕ!

1. Полимеразу ТехноТaq МАХ необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.
2. Для базового способа постановки требуется предварительная подготовка образцов ДНК и контрольных образцов (7.3.2, 7.3.7).

7.3.2 При использовании базового способа постановки:

Подготовьте раствор полимеразы ТехноТaq МАХ и анализируемые образцы ДНК согласно руководству по эксплуатации ДТстрим.

7.3.3 При использовании интегрального способа постановки:

Предварительной подготовки раствора полимеразы ТехноТaq МАХ и анализируемых образцов не требуется.

7.3.4 Центрифугируйте стрипы со смесями для амплификации Стрим на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.5 При использовании базового способа постановки:

Установите стрипы со смесями для амплификации Стрим, ориентируясь на цветовую маркировку смеси (первая пробирка отмечена голубым буфером), пробирки с подготовленным раствором полимеразы ТехноТaq МАХ, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим.

7.3.6 При использовании интегрального способа постановки:

Установите стрипы со смесями для амплификации Стрим, ориентируясь на цветовую маркировку смеси (первая пробирка отмечена голубым буфером), пробирки с ПЦР-буфером Стрим, полимеразой ТехноТaq МАХ, буфером для разведения НК, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим.

7.3.7 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с

ВНИМАНИЕ!

1. Перед проведением подготовки (при необходимости) и дозирования для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.
2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-НК и ПРОБА-НК-ПЛЮС необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.8 Установите неизвестные образцы ДНК, отрицательный контрольный образец и положительный контрольный образец на рабочий стол ДТстрим.
- 7.3.9 Откройте стрипы со смесями для амплификации Стрим, аккуратно сняв защитную фольгу, и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.
- 7.3.10 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.
- 7.3.11 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.
- 7.3.12 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.
- 7.3.13 Установите микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.
- 7.3.14 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.3.13) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 5.

¹ – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении Б) или предоставляется производителем набора реагентов

Т а б л и ц а 5 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» (фасовка А)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1 Учет результатов амплификации осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2 При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать перпексионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».

9.3 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 6. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

9.4 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате нуклеиновых кислот, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно).

9.5 При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

9.6 При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Таблица 6 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cp/Cq	Cy5, Cp/Cq	
Неизвестные образцы				
Пробирка №1 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Пробирка №2 стрипа				
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Moraxella catarrhalis</i>
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена ДНК <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Пробирка №3 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Пробирка №4 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Haemophilus influenzae</i>
Пробирка №5 стрипа				
< 35	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Staphylococcus aureus</i>
Пробирка №6 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Legionella pneumophila</i>
Пробирка №7 стрипа				
< 35	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Acinetobacter spp.</i>
Пробирка №8 стрипа				
< 35	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК <i>Escherichia coli</i>
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена ДНК <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Для всех пробирок				
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не обнаружены ДНК определяемых микроорганизмов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец				
Не указан Для пробирок №7, 8 допускается ≥ 35	Указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец				
Указан (для пробирок №1, 3–8)	Не учитывается	Указан (для пробирки №2)	Указан (для пробирок №1, 2, 8)	Положительный результат Результаты постановки валидны

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

10.1.2 Фасовка S

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °C до 25 °C не более 5 суток.

10.1.3 Фасовка A

10.1.3.1 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °C до 25 °C не более 5 суток.

10.1.3.2 Допускается транспортирование полимеразы ТехноТaq МАХ в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °C не более 5 суток.

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

10.2 Хранение

10.2.1 Фасовка S

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2 Фасовка A

10.2.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Смеси для амплификации Стрим следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2.2 Полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °C до минус 18 °C в течение всего срока годности набора реагентов.

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 утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ (фасовка А) следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
- смеси для амплификации, запечатанные парафином и смеси для амплификации Стрим, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов;
- полимеразу ТехноТaq МАХ (фасовка А) следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

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

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Использовать до
	Код партии (серии)
	Дата изготовления
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Не допускать воздействия солнечного света
	Нестерильно

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

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

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

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 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики и другого лабораторного применения и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС» (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

- ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.
- ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская область, г.о. Серпухов, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

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

Приложение А

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»
при использовании набора реагентов БакСкрин Пневмо 1
в фасовке S**

- 1) «Метод анализа» – «Геометрический (Ср)»;
- 2) Объем реакционной смеси – 35 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Номер пробы в стрипе	Канал детекции, выявляемый показатель			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
1	<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	BK	–	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
2	–	BK	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	BK	Маркер	–
4	<i>Haemophilus influenzae</i>	BK	–	–
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	BK	–	–
6	<i>Legionella pneumophila</i>	BK	–	–
7	<i>Acinetobacter</i> spp.	BK	–	–
8	<i>Escherichia coli</i>	BK	–	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

Приложение Б

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм»
при использовании набора реагентов БакСкрин Пневмо 1
в фасовке А**

- 1) «Метод анализа» – «Геометрический (Ср)»;
- 2) Объем реакционной смеси – 12 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение

√ – режим оптических измерений

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Номер проби в стрипе	Канал детекции, выявляемый показатель			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
1	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	BK	–	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
2	–	BK	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	BK	Маркер	–
4	<i>Haemophilus influenzae</i>	BK	–	–
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	BK	–	–
6	<i>Legionella pneumophila</i>	BK	–	–
7	<i>Acinetobacter spp.</i>	BK	–	–
8	<i>Escherichia coli</i>	BK	–	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

Приложение В

**Сокращённая методика выделения НК из исследуемого материала
(мазки из носоглотки, ротоглотки) с использованием комплектов реагентов
ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС**

ВНИМАНИЕ!

1. Перед началом работы необходимо:
 - включить термостат для прогрева до 65 °С;
 - достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флакон с лизирующим раствором на термостате, предварительно прогревом до 65 °С, до полного растворения осадка. Затем следует перемешать раствор переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Перед использованием охладите раствор до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С). Осадок также можно растворить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение приблизительно 12 часов.
 2. При прогревании пробирок с образцами возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).
1. Промаркируйте одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл для отрицательного контрольного образца (К-).
 2. Внесите в каждую промаркированную пробирку с подготовленным для исследования материалом в объёме 100 мкл (см. 6.5) и в пробирку, промаркированную «К-», по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
 3. Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл отрицательного контрольного образца.
 4. Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 5. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
 6. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 7. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 8. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин.
 9. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
 10. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.

11. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
12. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
13. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
14. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
15. Не задевая осадок, удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки). Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20–30 мкл.
16. Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
17. Добавьте к осадку **50 мкл (комплектация ПРОБА-НК) или 300 мкл (комплектация ПРОБА-НК-ПЛЮС)** буфера для растворения, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
18. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
19. Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 30 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

Если предполагается использование препарата НК только для постановки ПЦР (исследование ДНК), допускается хранение препарата НК при температуре от 2 °С до 8 °С не более 7 суток или при температуре не выше минус 20 °С не более 1 года, не размораживая до постановки.

Если предполагается использование препарата НК для совместной постановки ПЦР и ОТ-ПЦР (исследование ДНК и РНК), полученный препарат НК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Для возможности проведения повторного исследования оставшуюся НК следует сразу же поместить в морозильную камеру и хранить при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток, не размораживая до постановки.

Перед использованием препарата НК для постановки ПЦР после хранения необходимо разморозить препарат НК и отрицательный контрольный образец при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С, затем встряхнуть пробирки с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Для препарата НК допускается только однократное размораживание!

Приложение Г

Таблица Г1 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм» и «ДТлайт» (допускается использование при совместных постановках с наборами реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР производства ООО «ДНК-Технология ТС»)

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	15	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	8		Цикл
	64	0	15		√	
4	90	0	5	40		Цикл
	64	0	15		√	
5	64	0	5	1		Цикл
6	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C