



634-1 2023-03-30

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2022/17008 от 26 апреля 2022 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов ОРВИ Комплекс.** Изучите инструкцию перед началом работы.

Набор реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ- ПЦР в режиме реального времени ОРВИ Комплекс

REF R3-P439-S3/5

Информация о наборе реагентов

Назначение: Набор реагентов предназначен для выявления и дифференциации нуклеиновых кислот возбудителей эпидемических и сезонных острых респираторных вирусных инфекций человека (коронавирус SARS-CoV-2, вирусы гриппа А и В, респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа 1-4 типов, риновирус, аденовирус, метапневмовирус, коронавирусы HKU1, NL63, OC43, 229E, бокавирус) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Специализированное оборудование:

Амплификаторы детектирующие «ДТлайт», «ДТпрайм» или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

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

Количество исследуемых образцов: 24 (включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов).

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	3 пробирки	по 1,0 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	100 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	250 мкл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов		24 шт.	

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладозементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладозементами при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Стрипы со смесями для амплификации, запечатанными парафином, ОТ-ПЦР-буфер, внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", буфер для растворения и положительный контрольный образец следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Стрипы со смесями для амплификации, запечатанными парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов ОРВИ Комплекс, 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

Т а б л и ц а 1 - Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

Номер пробики в стрипе	Выявляемый показатель, каналы детекции				Цветовая маркировка смеси
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	Influenza A virus	PHK-ВК ¹	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus	Бесцветная
2	Human parainfluenza virus type 2	PHK-ВК	Human parainfluenza virus type 4	Human coronavirus 229E	
3	Human bocavirus	PHK-ВК	Маркер	Human rhinovirus	
4	Human respiratory syncytial virus	PHK-ВК	-	Human coronavirus HKU1	
5	Human adenovirus	PHK-ВК	-	Human coronavirus NL63	
6	Human coronavirus OC43	PHK-ВК	-	Human parainfluenza virus type 3	
7	Human parainfluenza virus type 1	PHK-ВК	-	-	
8	Human metapneumovirus	PHK-ВК	-	-	

¹ – «PHK-ВК» в тесте AVRI_S обозначен как «ВК»

Проведение анализа

1 Выделение НК

Для выделения НК из мазков из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, мокроты используют комплекты реагентов для выделения НК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке. Выделение НК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов.

Таблица 2 – Комплекты реагентов, валидированные для использования совместно с набором реагентов ОРВИ Комплекс.

Биоматериал	ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС	ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС (укороченная методика)*
мазки из носоглотки, ротоглотки	+	+
бронхоальвеолярный лаваж	+	-
эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	+	-
мокрота	+	-

* см. инструкцию для набора реагентов ОРВИ Комплекс

В ходе подготовки мазков из носоглотки и зева (ротоглотки), взятых в пробирку с транспортной средой, образцов бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата предварительное центрифугирование не требуется.

Для выделения используется **100 мкл образца**.

ВНИМАНИЕ! Объем полученного препарата нуклеиновых кислот должен быть 100 мкл, при меньшем количестве следует перед проведением ОТ-ПЦР довести объем до необходимого, используя буфер для растворения из набора реагентов ОРВИ Комплекс.

Примечание – Процедура предобработки мокроты раствором трёхзамещенного фосфорнокислого натрия (Na₃PO₄) или муколизиним, приведена в инструкции к комплекту реагентов «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС)», в комплектации ПРОБА-НК или ПРОБА-НК-ПЛЮС, производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867, раздел «Взятие и подготовка клинического материала» (Мокрота (способ 1 и способ 2)).

Внутренний контрольный образец. При проведении пробоподготовки в качестве внутреннего контрольного образца необходимо использовать внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов ОРВИ Комплекс. РНК-ВК "А" следует использовать в объеме **10 мкл на образец**.

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением НК из биологического материала необходимо провести через все этапы пробоподготовки **отрицательный контрольный образец** (в его качестве рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего комплекта реагентов, в объеме, указанном в инструкции к комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот).

- 2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции**
ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесями для амплификации.
ВНИМАНИЕ! Строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!
- 2.1** Промаркируйте по одному стрипу со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого исследуемого образца, положительного контрольного образца (К+) и отрицательного контрольного образца (К-).
 П р и м е ч а н и е: Один стрип рассчитан на исследование одного образца.
 П р и м е р : Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 стрипов для исследуемых образцов; один стрип для «К+» и один стрип для «К-». Общее количество стрипов – 8.
- 2.2** Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вortexе содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер» и «Фермент Taq/RT» и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вortexе.
ВНИМАНИЕ! Фермент Taq/RT необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.
- 2.3** Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT. Для этого смешайте в отдельной пробирке:
 - 15 x (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера;
 - 0,5 x (N+1) мкл фермента Taq/RT,
 где N – количество пробирок в промаркированных стрипах с учетом «К+» и «К-».
- 2.4** Встряхните пробирку в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вortexе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вortexе.
ВНИМАНИЕ! Смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT необходимо готовить непосредственно перед использованием. Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа после приготовления.
- 2.5** Добавьте в каждую стрипованную пробирку со смесью для амплификации, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.
- 2.6** Встряхните пробирки с исследуемыми и контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вortexе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вortexе.
ВНИМАНИЕ! Для предотвращения контаминации следует перед внесением НК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего. Закрывайте стрипы плотно. Препараты НК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.
- 2.7** Внесите в соответствующие стрипы для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл препарата НК. В пробирки «К+», «К-» НК не вносится.
- 2.8** Внесите в пробирки стрипа, промаркированного «К+», не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца.
- 2.9** Внесите в пробирки стрипа, промаркированного «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения НК.
- 2.10** Центрифугируйте пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вortexе.
- 2.11** Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл.
 При использовании приборов серии ДТ: запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл с параметрами теста «ОРВИ Комплекс». При последующих постановках укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (объем реакционной смеси 40 мкл) и проведите ОТ-ПЦР.
- 3 Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 3.

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Каталожный номер		Серия набора реагентов
	Температурный диапазон		Дата изготовления		Не стерильно
	Годен до		Обратитесь к инструкции по применению		Количество тестов
	Не допускается воздействие солнечного света		Адрес изготовителя		

Таблица 3 - Интерпретация результатов исследования анализируемых образцов

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam	Hex	Rox	Cy5	
Пробирка №1 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Ср не указан	Не учитывается	Ср указан	Ср не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Пробирка №2 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 2
Ср не указан	Не учитывается	Ср указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 4
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Human coronavirus 229E
Пробирка №3 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена ДНК Human bocavirus
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Human rhinovirus
Пробирка №4 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human respiratory syncytial virus
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Human coronavirus HKU1
Пробирка №5 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена ДНК Human adenovirus
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Human coronavirus NL63
Пробирка №6 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human coronavirus OC43
Ср не указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 3
Пробирка №7 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 1
Пробирка №8 стрипа				
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср не указан	Обнаружена РНК Human metapneumovirus
Для всех пробирок				
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	Ср не указан	Не обнаружены нуклеиновые кислоты определяемых вирусов
Ср не указан	Ср не указан	Ср не указан	Ср не указан	Результат недостоверный