



1139 2025-05-12



## **ИНСТРУКЦИЯ**

по применению набора реагентов  
для выявления гомо- и гетерозиготных делеций 7 экзона гена SMN1  
методом ПЦР в режиме реального времени

### **СМА Скрин**

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2025/25327 от 29 апреля 2025 года

**ВНИМАНИЕ!** Изучите инструкцию перед началом работы

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                           | 4  |
| 1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....                                                                                        | 6  |
| 2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ .....                                                                                  | 7  |
| 2.1 Состав набора реагентов.....                                                                                         | 7  |
| 2.2 Количество анализируемых образцов.....                                                                               | 7  |
| 2.3 Принцип метода .....                                                                                                 | 7  |
| 3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ .....                                                                   | 10 |
| 3.1 Аналитическая специфичность .....                                                                                    | 10 |
| 3.2 Интерферирующие вещества .....                                                                                       | 10 |
| 3.3 Предел обнаружения .....                                                                                             | 11 |
| 3.4 Диагностические характеристики.....                                                                                  | 11 |
| 3.5 Воспроизводимость результатов .....                                                                                  | 11 |
| 4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....                                                                                             | 12 |
| 5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....                                                                                          | 14 |
| 6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....                                                                                             | 16 |
| 6.1 Материал для исследования .....                                                                                      | 16 |
| 6.2 Общие требования .....                                                                                               | 16 |
| 6.3 Взятие материала на исследование.....                                                                                | 16 |
| 6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала.....                                                  | 16 |
| 7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА .....                                                                                               | 17 |
| 7.1 Выделение ДНК из биологического материала .....                                                                      | 17 |
| 7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Автоматизированное дозирование<br>с использованием дозирующего устройства ДТстрим ..... | 17 |
| 7.3 Подготовка и проведение ПЦР, ручное дозирование .....                                                                | 20 |
| 8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ .....                                                                             | 22 |
| 9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ .....                                                                                 | 23 |
| 10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....                                                                       | 25 |
| 11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ .....                                                                                          | 26 |
| 12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ .....                                                                                           | 26 |
| 13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ .....                                                                               | 26 |
| 14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....                                                            | 27 |
| 15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....                                                                     | 28 |
| 16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ .....                                                                                             | 29 |
| Приложение А.....                                                                                                        | 30 |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

|        |                                                                                                                     |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| СМА    | - спинальная мышечная атрофия                                                                                       |
| MLPA   | - от англ. multiplex ligation-dependent probe amplification – метод мультиплексной амплификации лигированных зондов |
| RCF    | - от англ. relative centrifugal force – относительное ускорение центрифуги                                          |
| SMN1   | - от англ. <i>survival of motor neuron</i> – «ген выживаемости моторных нейронов 1»                                 |
| SMN2   | - от англ. <i>survival of motor neuron</i> – «ген выживаемости моторных нейронов 2»                                 |
| БК     | - внутренний контроль (нормировочный ген)                                                                           |
| ДИ     | - доверительный интервал                                                                                            |
| ДНК    | - дезоксирибонуклеиновая кислота                                                                                    |
| ДНКазы | - дезоксирибонуклеазы                                                                                               |
| ИБ     | - интерферирующие вещества                                                                                          |
| К–     | - отрицательный контрольный образец                                                                                 |
| К+     | - положительный контрольный образец                                                                                 |
| ЛКО    | - лабораторный контрольный образец                                                                                  |
| ПЦР    | - полимеразная цепная реакция                                                                                       |
| РНКазы | - рибонуклеазы                                                                                                      |
| ЭДТА   | - этилендиаминтетраацетат                                                                                           |

## ВВЕДЕНИЕ

Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (СМА 5q) – это тяжелое аутосомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, характеризующееся прогрессирующими симптомами вялого паралича и мышечной атрофии вследствие дегенерации  $\alpha$ -мотонейронов передних рогов спинного мозга. В основе патогенеза данного заболевания лежат мутации в гене SMN1, который кодирует белок SMN (survival motor neuron – белок выживаемости моторных нейронов). Ген SMN1 картирован на хромосоме 5 и имеет центромерную копию – гомологичный ген SMN2. Оба гена состоят из девяти экзонов и различаются несколькими нуклеотидами в последовательности ДНК [1]. В 95% случаев причиной СМА 5q являются гомозиготные потери экзонов 7 или 7-8 гена SMN1 [1,2]. Остальные 5% пациентов являются компаунд-гетерозиготами по делеции в одной копии гена SMN1 и точковой мутации в другой, крайне редко – компаунд гетерозиготами по двум минорным мутациям [1].

В настоящее время СМА 5q – одна из ведущих причин смертности от наследственной патологии у детей с дебютом в раннем возрасте (во многих странах, включая РФ, генетическое тестирование новорожденных на СМА 5q входит в программы неонатального скрининга). Общепопуляционная распространенность данного заболевания составляет 1 на 6000 – 10000 новорожденных [3]. Общероссийская частота носительства патогенных делеций в гене SMN1 в РФ составляет 1/36 человек [1]. Вероятность рождения со СМА 5q, в том случае, когда оба родителя являются носителями патогенных мутации SMN1, составляет 25%, в случае носительства хотя бы у одного из партнеров риск рождения ребенка со СМА 5q – выше средне популяционного [5]. Прекоцепционное генетическое тестирование на носительство патогенных делеций в гене SMN1 для супружеских пар, планирующих беременность (первичная профилактика), рядом исследователей рассматривается как наиболее эффективная стратегия, направленная на снижение частоты встречаемости наследственной СМА 5q [4, 5].

### Список литературы

1. Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q Клинические рекомендации МЗ РФ. 2023.
2. Диль А.В., Назаров В.Д., Сидоренко Д.В., Лапин С.В., Эмануэль В.Л. Исследование особенностей генетических изменений гена SMN1 при спинальной мышечной атрофии 5q. Нервно-мышечные болезни. 2022; 12(3):36-44.
3. Забненкова В.В., Дадали Е.Л., Поляков А.В. Проксимальная спинальная мышечная атрофия типов I–IV: особенности молекулярно-генетической диагностики. Нервно-мышечные болезни. 2013; 3:27-31.
4. Бофанова Н.С., Елисеева А.Р., Ончина В.С. Современные принципы терапии пациентов со спинальными мышечными атрофиями. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2023; 123(3):34-40.
5. Кудрявцева Е.В., Лагутина О.В., Ковалев В.В., Дерябина С.С., Захарова И.А., Черепенникова А.Ю. Молекулярно-генетическое исследование ассоциированных со спинальной мышечной атрофией генов SMN1 и SMN2 у лиц с бесплодием, направленных на проведение экстракорпорального оплодотворения. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2023; 17(6):707-717.

## **1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

**1.1** Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления гомо- и гетерозиготных делеций 7 экзона гена SMN1 методом ПЦР в режиме реального времени (СМА Скрин), далее по тексту – набор реагентов.

**1.2** Назначение: набор реагентов предназначен для выявления гомо- и гетерозиготных делеций 7 экзона гена SMN1, ассоциированных с развитием спинальной мышечной атрофии (СМА 5q), в биологическом материале человека (цельная кровь) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

**1.3** Функциональное назначение: скрининг.

**1.4** Показания к проведению анализа: преконцепционный генетический скрининг.  
Противопоказаний к применению нет.

**1.5** Популяционные и демографические аспекты: применение 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

### 2.1 Состав набора реагентов

| REF R1-H821-N3/9, фасовка N                    |                                                   |                     |                              |
|------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| Наименование компонента                        | Внешний вид                                       | Количество пробирок | Номинальный объём компонента |
| Смесь для амплификации                         | Прозрачная бесцветная или розовая жидкость        | 2 пробирки          | по 1,5 мл                    |
| Полимераза ТехноТaq МАХ                        | Прозрачная бесцветная вязкая жидкость             | 2 пробирки          | по 25 мкл                    |
| Минеральное масло                              | Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость | 2 пробирки          | по 1,0 мл                    |
| Положительный контрольный образец <sup>1</sup> | Прозрачная бесцветная жидкость                    | 1 пробирка          | 130 мкл                      |
| Стрипы по 8 пробирок                           | 12 шт.                                            |                     |                              |
| Крышки для стрипов                             | 12 шт.                                            |                     |                              |

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

Комплектность:

- Набор реагентов – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Вкладыш – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

### 2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов при проведении ручного дозирования рассчитан на 96 определений (не более 4 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Набор реагентов при проведении автоматизированного дозирования рассчитан на проведение 96 определений (одна постановка на 96 образцов или две постановки по 48 образцов), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

### 2.3 Принцип метода

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

Принцип метода основан на амплификации 7 экзона гена SMN1 и фрагмента однокопийного нормировочного контрольного гена (ВК) с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Специфичность амплификации SMN1 достигается наличием неспаренного нуклеотида в 3'-область SMN1-специфичного праймера.

Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей Taq-полимеразой.

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

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который 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 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-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации 7 экзона гена SMN1, включена флуоресцентная метка Fam.

В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации фрагмента нормировочного гена (BK), включен флуоресцентный краситель Cy5.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

| Fam          | Hex | Rox | Cy5 | Cy5.5 |
|--------------|-----|-----|-----|-------|
| 7 экзон SMN1 | -   | -   | BK  | -     |

В ходе ПЦР определяется значение индикаторного цикла (Cp) для 7 экзона гена SMN1 и нормировочного гена (BK). При подстановке значений Cp в формулу (1) для каждого неизвестного образца вычисляется значение ΔCp, характеризующее содержание 7 экзона гена SMN1 относительно однокопийного нормировочного гена:

$$\Delta C_p = C_p \text{ SMN1} - C_p \text{ BK} \quad (1),$$

где Cp – значение индикаторного цикла для 7 экзона гена SMN1 и для нормировочного гена (BK).

Статус наличия/отсутствия делеций 7 экзона SMN1 определяется с учетом величины ΔCp согласно рекомендованным пороговым значениям, приведённым в таблице 6 (раздел 9).

Набор реагентов позволяет определять гомо- и гетерозиготные варианты потери 7 экзона гена SMN1 («делеции») как в форме истинных делеций (7 экзона и 7-8 экзонов), так и в форме функциональной потери экзона 7 SMN1 – в результате генной конверсии NM\_000344.3:c.840C>T(SMN1>SMN2).

**ВНИМАНИЕ!**

1. Набор реагентов **не позволяет** определять формы скрытого носительства делеций 7 экзона гена SMN1 (генотип 2+0) – вариант генетического носительства СМА q5, характеризующийся двумя копиями гена SMN1 на одной хромосоме, при его отсутствии на второй хромосоме. **При проведении исследования с использованием набора реагентов в этом случае не будет выявлено носительство делеции 7 экзона SMN1!**
2. Для корректной оценки количества копий 7 экзона генов SMN1 допустимое значение Ср ВК должно составлять не более 31 ( $\text{Ср ВК} \leq 31$ ), что соответствует значению концентрации геномной ДНК более 1,0 нг/мкл.

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

### **3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

#### **3.1 Аналитическая специфичность**

В ходе НИОКР была проведена проверка специфичности набора реагентов биоинформатическими методами. Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций для каждой из систем олигонуклеотидов (SMN1 и BK), входящих в состав набора реагентов.

Аналитическая специфичность набора реагентов подтверждена с использованием генно-инженерных конструкций (рекомбинантных плазмид) соответствующих последовательностям ДНК выявляемых показателей (7 экзон SMN1 и BK), а также гомологичного фрагмента SMN2. Специфичность систем олигонуклеотидов SMN1 дополнительно подтверждена с использованием контрольных референсных образцов ДНК, охарактеризованных по числу копий генов SMN1 и SMN2 методом MLPA.

#### **3.2 Интерферирующие вещества**

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной недостоверных результатов. Признаками ингибирования ПЦР являются отсутствие кривой накопления внутреннего контроля, искажение ее формы (кривая накопления не имеет типичной s-образной формы, не достигает плато, имеет пологий характер) либо резкий сдвиг по шкале  $C_p$  вправо.

К ингибиторам ПЦР, источником которых может являться образец биологического материала, отнесены антикоагулянты, применяемые при взятии крови, а также интерферирующие вещества эндогенной природы – гемоглобин, билирубин, холестерин и триглицериды. Предельные допустимые концентрации потенциальных интерферирующих веществ в образце исходного биоматериала приведены в таблице 2.

К потенциальным ингибиторам в препаратах ДНК отнесены: промывочный раствор №2 набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС.

**Примечание** – Максимальное количество промывочного раствора №2 набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС, при котором не наблюдалось ингибирование ПЦР, составляет не более 9,0% от объема препарата ДНК (при элюции ДНК в 200 мкл).

При строгом соблюдении инструкций по применению рекомендованных наборов реагентов для выделения ДНК эффекта ингибирования ПЦР промывочными растворами не наблюдается.

Таблица 2 – Предельные допустимые концентрации потенциальных интерферирующих веществ в образце исходного биоматериала.

| Вид биоматериала | Интерферирующее вещество | Исследованная концентрация в образце |
|------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| Экзогенные       |                          |                                      |
| Цельная кровь    | ЭДТА                     | 3,6 мг/мл                            |
| Эндогенные       |                          |                                      |
| Цельная кровь    | Гемоглобин               | 250 г/л                              |
|                  | Билирубин                | 500 мкмоль/л                         |
|                  | Холестерин               | 12 ммоль/л                           |
|                  | Триглицериды             | 500 мг/л                             |

### 3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения гомозиготных и гетерозиготных делеций 7 экзона гена SMN1 составляет 1,0 нг/мкл ( $C_p \text{ BK} \leq 31$ ).

Аналитический предел обнаружения (амплификатор регистрирует положительный результат) составляет 5 копий ДНК каждого аналита (7 экзон SMN1 и BK) на амплификационную пробирку.

### 3.4 Диагностические характеристики

#### 3.4.1 Диагностические характеристики по показателю делеция 7 экзона SMN1 в гомозиготном состоянии

|                                          |                          |
|------------------------------------------|--------------------------|
| Количество образцов                      | 247                      |
| Диагностическая чувствительность (ДИ95%) | 100.00% (63,06%–100.00%) |
| Диагностическая специфичность (ДИ95%)    | 100.00% (98,47%–100.00%) |

#### 3.4.2 Диагностические характеристики по показателю делеция 7 экзона SMN1 в гетерозиготном состоянии

|                                          |                          |
|------------------------------------------|--------------------------|
| Количество образцов                      | 247                      |
| Диагностическая чувствительность (ДИ95%) | 100.00% (86,28%–100.00%) |
| Диагностическая специфичность (ДИ95%)    | 100.00% (98,35%–100.00%) |

### 3.5 Воспроизводимость результатов

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.

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 клинко-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 помещений, в которых проводятся выделение ДНК 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 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                                                        |
|-----------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Смесь для амплификации            | Нет опасных веществ                    | -                                                                        |
| Полимераза ТехноTaq MAX           | Нет опасных веществ                    | -                                                                        |
| Минеральное масло                 | Нет опасных веществ                    | -                                                                        |
| Положительный контрольный образец | <b>Азид натрия менее 0,1%</b>          | 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 исключен.

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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Дозирование |                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | ручное      | автоматизированное |
| ПЦР-бокс                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | да          | да                 |
| амплификатор с детекцией в режиме реального времени <sup>1</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | да          | да                 |
| микроцентрифуга-вортекс                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | да          | да                 |
| холодильник с морозильной камерой                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | да          | да                 |
| штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | да          | нет                |
| штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл <sup>3</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | да          | нет                |
| штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | да          | да                 |
| штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 2,0 мл юбочных                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | да          | нет                |
| дозаторы механические или электронные переменного объёма, позволяющие отбирать объём жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл                                                                                                                                                                                                                                                                                    | да          | да                 |
| одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл                                                                                                                                                                                                                                                                                    | да          | да                 |
| штатив для дозаторов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | да          | да                 |
| пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл; 2,0 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | да          | нет                |
| пробирки амплификационные объёмом 0,2 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз или микропланшет ПЦР 96 лунок <sup>4</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                            | да          | да                 |
| одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | да          | да                 |
| ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | да          | да                 |
| Устройство дозирующее ДТстрим в варианте исполнения *М4 по ТУ 9443-005-96301278-2012, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982                                                                                                                                                                                                                                                                            | нет         | да                 |
| Устройство дозирующее ДТстрим в варианте исполнения *М1 по ТУ 9443-005-96301278-2012, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982                                                                                                                                                                                                                                                                            | 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», Россия <sup>5</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | да          | да                 |
| центрифуга с адаптером для микропланшетов, с RCF(g) не ниже 100 <sup>5</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | да          | да                 |
| полимерная термоплёнка для запечатывания микропланшетов ПЦР <sup>5</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | да          | да                 |
| Набор реагентов для выделения ДНК ПРОБА-МЧ МАКС по ТУ 21.20.23-106-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/14391                                                                                                                                                                                                                                                                                |             |                    |
| <b>Примечания к таблице:</b><br><sup>1</sup> - далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже<br><sup>2</sup> - при использовании пробирок<br><sup>3</sup> - при использовании стрипов<br><sup>4</sup> - опционально; микропланшеты ПЦР не используются для детектирующего амплификатора «ДТлайт»<br><sup>5</sup> - при использовании микропланшетов ПЦР |             |                    |

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

- обеспечивается работа с объёмом реакционной смеси 35 мкл;
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, 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 II» по ТУ 26.51.53-001-96301278-2022 (модификация «ДТпрайм \*М\*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24179, далее по тексту – «ДТпрайм II»;
- 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».

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 образцы цельной периферической крови.

### 6.2 Общие требования

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.

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 и СанПин 3.3686-21.

### 6.3 Взятие материала на исследование

Взятие материала проводится в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС (7.1).

**Ограничение метода:** внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания – менее чем за 6 часов до исследования.

### 6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Условия транспортирования и хранения образцов биологического материала определяются инструкцией по применению набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС (7.1).

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

## 7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Для выделения ДНК валидирован Набор реагентов для выделения ДНК ПРОБА-МЧ МАКС, ООО «ДНК-Технология ТС», РУ № РЗН 2021/14391.

Выделение ДНК из биологического материала проводят в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС.

#### **ВНИМАНИЕ!**

1. Элюцию ДНК следует проводить в 200 мкл элюирующего раствора.
2. Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС, в объеме, указанном в инструкции по применению набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС.
3. При использовании для выделения ДНК наборов реагентов, не валидированных для совместного использования с набором реагентов СМА Скрин, производитель не гарантирует корректную интерпретацию результатов исследования.

Полученный препарат ДНК можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более семи суток или при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 6 месяцев.

**ВНИМАНИЕ!** Если предполагается хранить препарат ДНК более семи суток, необходимо перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

### 7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Автоматизированное дозирование с использованием дозирующего устройства ДТстрим

#### **ВНИМАНИЕ!**

1. Для амплификации следует использовать одноразовые стрипованные амплификационные пробирки объемом 0,2 мл<sup>1</sup> (стрипы) или микропланшеты ПЦР 96 лунок<sup>2</sup>, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
3. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте необходимое количество стрипованных пробирок или микропланшет ПЦР 96 лунок для неизвестных образцов, для отрицательного контрольного образца «К-» и для положительного контрольного образца «К+».

<sup>1</sup> - входят в состав набора реагентов

<sup>2</sup> - для детектирующего амплификатора «ДТлайт» микропланшеты ПЦР 96 лунок не используются

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано:

- на 1 постановку при условии 94 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К–» и положительного контрольного образца «К+» в постановке;
- или на 2 постановки при условии 46 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К–» и положительного контрольного образца «К+» в каждой постановке.

Таблица 3 – Количество реагентов для проведения исследования

| Наименование компонента           | Количество реагентов на постановку                        |                                             |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                   | 96 анализируемых образцов<br>(1 постановка <sup>1</sup> ) | 48 анализируемых образцов<br>(2 постановки) |
| Смесь для амплификации            | 2 пробирки                                                | 1 пробирка                                  |
| Полимераза ТехноТaq МАХ           | 2 пробирки                                                | 1 пробирка                                  |
| Минеральное масло                 | 2 пробирки                                                | 1 пробирка                                  |
| Положительный контрольный образец | 1 пробирка                                                | 1 пробирка <sup>2</sup>                     |

7.2.2 Встряхните пробирку/пробирки (см. таблицу 3) со смесью для амплификации на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.2.3 Центрифугируйте пробирку/пробирки (см. таблицу 3) с полимеразой ТехноТaq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.2.4 Центрифугируйте пробирку/пробирки с минеральным маслом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

**ВНИМАНИЕ!** Полимеразу ТехноТaq МАХ необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

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!** Перед проведением дозирования 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.

7.2.6 Установите пробирки со смесью для амплификации, минеральным маслом, полимеразой ТехноТaq МАХ, с препаратами ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом, а также амплификационные

<sup>1</sup> - для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» и «ДТпрайм II»

<sup>2</sup> - используется дважды, после проведения первой постановки необходимо закрыть пробирку прилагаемой крышкой и хранить при температуре от 2 °С до 8 °С до следующей постановки

стрипы или микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации дозирующего устройства.

### 7.2.7 В случае использования микропланшетов ПЦР 96 лунок:

- 7.2.7.1 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве.
- 7.2.7.2 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.
- 7.2.7.3 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.

### 7.2.8 В случае использования стрипов:

- 7.2.8.1 Плотнo закройте стрипы.
- 7.2.8.2 Центрифугируйте все стрипы на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с.
- 7.2.9 Установите стрипы или микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.
- 7.2.10 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест<sup>1</sup>. 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. 7.2.9) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II», «ДТлайт»

| № блока                        | Температура, °C | мин | с   | Число циклов | Режим оптических измерений | Тип блока |
|--------------------------------|-----------------|-----|-----|--------------|----------------------------|-----------|
| 1                              | 80              | 0   | 30  | 1            |                            | Цикл      |
|                                | 94              | 5   | 00  |              |                            |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 2                              | 94              | 0   | 30  | 5            |                            | Цикл      |
|                                | 60              | 0   | 15  |              | √                          |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 3                              | 94              | 0   | 10  | 40           |                            | Цикл      |
|                                | 60              | 0   | 15  |              | √                          |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 4                              | 94              | 0   | 5   | 1            |                            | Цикл      |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 5                              | 25 <sup>2</sup> | ... | ... | Хранение     |                            | Хранение  |
| √ - режим оптических измерений |                 |     |     |              |                            |           |

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

<sup>2</sup> - допускается хранение при температуре 10 °C

### 7.3 Подготовка и проведение ПЦР, ручное дозирование

#### ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать одноразовые стрипованные амплификационные пробирки объёмом 0,2 мл<sup>1</sup> или одноразовые амплификационные пробирки объёмом 0,2 мл и микропланшеты ПЦР 96 лунок<sup>2</sup>, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
3. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок/стрипованных пробирок или микропланшет ПЦР 96 лунок для неизвестных образцов, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано не более чем на 4 постановки при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 6 неизвестных образцов. Для этого нужно промаркировать 6 пробирок/зарезервировать 6 лунок микроплaшета для неизвестных образцов, одну пробирку/лунку для «К-» и одну пробирку/лунку для «К+». Общее количество пробирок/лунок – 8.

- 7.3.2 Встряхните пробирку/пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.3.3 Центрифугируйте пробирку/пробирки с полимеразой ТехноТaq МАХ и минеральным маслом на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.

**ВНИМАНИЕ!** Полимеразу ТехноТaq МАХ необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.3.4 Приготовьте смесь для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:
  - 30×(N+1) мкл смеси для амплификации,
  - 0,5×(N+1) мкл полимеразы ТехноТaq МАХ,где N – количество промаркированных пробирок/количество необходимых лунок микроплaшета с учётом «К-» и «К+».

<sup>1</sup> - входят в состав набора реагентов

<sup>2</sup> - для детектирующего амплификатора «ДТлайт» микроплaшеты ПЦР 96 лунок не используются

Пример:

Необходимо проанализировать 6 неизвестных образцов, «К-», «К+». Промаркированных пробирок/необходимых лунок микропланшета – 8. Нужно приготовить смесь для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ для 9 (8+1) пробирок, т.е. 270 мкл смеси для амплификации и 4,5 мкл полимеразы ТехноТaq МАХ.

7.3.5 Встряхните пробирку с приготовленной смесью для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

**ВНИМАНИЕ!** Смесь для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.3.6 Внесите во все промаркированные пробирки/необходимые лунки микропланшета (включая «К-», «К+») по 30 мкл смеси для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ.

**ВНИМАНИЕ!** После добавления смеси для амплификации с полимеразой ТехноТaq МАХ в пробирки/лунки необходимо сразу же выполнить 7.3.7 – 7.3.15.

7.3.7 Добавьте в пробирки/лунки микропланшета со смесью для амплификации по 20 мкл минерального масла. Неплотно прикройте стрипы крышками.

7.3.8 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 внесением препарата ДНК и отрицательного контрольного образца в пробирки/лунки с реакционной смесью 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.

2. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их, перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.3.9 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки/необходимые лунки микропланшета по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки/лунки, промаркированные «К-», «К+», ДНК не вносится.

- 7.3.10 Внесите в пробирку/лунку микропланшета, промаркированную «К–», 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.
- 7.3.11 Внесите в пробирку/лунку микропланшета, промаркированную «К+», 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.3.12 **В случае использования микропланшетов ПЦР 96 лунок:**
- 7.3.12.1 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак.
- 7.3.12.2 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.
- 7.3.12.3 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.
- 7.3.13 **В случае использования пробирок/стрипов:**
- Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.3.14 Установите пробирки/стрипы или микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.
- 7.3.15 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест<sup>1</sup>. 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. 7.3.14) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

## 8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

---

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

## 9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

**9.2** Интерпретация результатов ПЦР для каждого образца проводится с учётом значений  $C_p$  ДНК SMN1 (канал детекции Fam) и нормировочного гена (BK) (канал детекции Cy5) в соответствии с таблицей 6. Интерпретация результатов скрининга проводится в соответствии с таблицей 7. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов (таблица 5).

**ВНИМАНИЕ!** Набор реагентов не позволяет определять формы скрытого носительства делеций 7 экзона гена SMN1 (генотип 2+0) – вариант генетического носительства СМА q5, характеризующийся двумя копиями гена SMN1 на одной хромосоме, при его отсутствии на второй хромосоме. В этом случае при проведении исследования с использованием набора реагентов не будет выявлено носительство делеции 7 экзона SMN1!

Таблица 5 – Интерпретация результатов ПЦР для контрольных образцов

| Канал детекции                    |                       | ΔCp <br>( Cp SMN1 (Fam) – Cp BK (Cy5) ) | Интерпретация результата                                 |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Fam (SMN1),<br>Cp                 | Cy5 (BK),<br>Cp       |                                         |                                                          |
| Отрицательный контрольный образец |                       |                                         |                                                          |
| Не указан<br>или ≥ 38             | Не указан<br>или ≥ 38 | Не учитывается                          | Отрицательный результат<br>Результаты постановки валидны |
| Положительный контрольный образец |                       |                                         |                                                          |
| < 38                              | < 38                  | ≤ 1,0                                   | Положительный результат<br>Результаты постановки валидны |

**9.3** При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 5, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

**9.4** При получении для положительного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 5, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Таблица 6 – Интерпретация результатов ПЦР

| Канал детекции      |                       | ΔCp<br>(Cp SMN1 (Fam) – Cp BK (Cy5))      | Интерпретация результата                       |
|---------------------|-----------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Fam (SMN1),<br>Cp   | Cy5 (BK),<br>Cp       |                                           |                                                |
| Неизвестные образцы |                       |                                           |                                                |
| Указан              | ≤ 31                  | > 6,0                                     | Обнаружена<br>гомозиготная делеция<br>(deldel) |
| Не указан           | ≤ 31                  | Не учитывается                            |                                                |
| Указан              | ≤ 31                  | 0,8 ≤ ΔCp ≤ 2,0                           | Обнаружена<br>гетерозиготная делеция<br>(Ndel) |
| Указан              | ≤ 31                  | < 0,8<br>(включая отрицательные значения) | Не обнаружена делеция<br>(NN)                  |
| Указан              | ≤ 31                  | 2,0 < ΔCp ≤ 6,0                           | Сомнительный результат<br>(?)                  |
| Не учитывается      | Не указан<br>или > 31 | Не учитывается                            | Недостоверный результат<br>(нд)                |

Таблица 7 – Интерпретация результатов исследования 7 экзона гена SMN1

| Интерпретация результатов ПЦР                      | Результат ПЦР-скрининга                                                                                                                                                                                                                                                                | Комментарии                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Обнаружена гомозиготная делеция</b><br>(deldel) | <b>Обнаружена делеция 7 экзона гена SMN1 в гомозиготном состоянии.</b><br><b>ВНИМАНИЕ!</b><br><b>Высокий риск СМА q5.</b><br>Требуется консультация врача-генетика.<br>Требуется расширенная диагностика SMN1 и SMN2 генов методом количественного MLPA-анализа и/или секвенирования.  | Рекомендуется подтвердить результат повторным исследованием, начиная с этапа пробоподготовки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Обнаружена гетерозиготная делеция</b><br>(Ndel) | <b>Обнаружена делеция 7 экзона гена SMN1 в гетерозиготном состоянии.</b><br>Рекомендуется консультация врача-генетика.<br>Рекомендуется подтверждение результата методом количественного MLPA-анализа и расширенная генетическая диагностика SMN1 и SMN2 генов методом секвенирования. | Рекомендуется подтвердить результат повторным исследованием, начиная с этапа пробоподготовки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Не обнаружена делеция<br>(NN)                      | Не обнаружена делеция 7 экзона гена SMN1.                                                                                                                                                                                                                                              | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Сомнительный результат                             | Рекомендуется исследование SMN1 и SMN2 генов альтернативными методами (методом количественного MLPA-анализа и/или секвенирования).                                                                                                                                                     | Требуется повторное исследование, начиная с этапа пробоподготовки. При воспроизведении сомнительного результата рекомендуется исследование альтернативными методами.                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Недостоверный результат                            | Требуется повторить исследование 7 экзона гена SMN1.                                                                                                                                                                                                                                   | 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).<br>Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. |

## **10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ**

### **10.1 Транспортирование**

- 10.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 10.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.3 Допускается транспортирование полимеразы ТехноТaq МАХ в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.4 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

### **10.2 Хранение**

- 10.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации следует хранить в защищённом от света месте.
- 10.2.2 Полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С 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, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
  - смесь для амплификации 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 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 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 приёмка 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 (СРПП). 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

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.

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](mailto:hotline@dna-technology.ru),

[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

## Приложение А

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение  
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II», «ДТлайт»  
при использовании набора реагентов СМА Скрин**

- 1) Количество пробирок в тесте – 1;
- 2) Объем реакционной смеси – 35 мкл;
- 3) Параметры анализа («Дополнительно»):
  - Критерий положительного результата ПЦР: 90%;
  - Критерий достоверности результатов:  
 Нижняя граница/порог положительного результата: 5%,  
 Верхняя граница/порог положительного результата: 30%.
- 4) 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              | 5   | 00  |              |                            |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 2                              | 94              | 0   | 30  | 5            |                            | Цикл      |
|                                | 60              | 0   | 15  |              | √                          |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 3                              | 94              | 0   | 10  | 40           |                            | Цикл      |
|                                | 60              | 0   | 15  |              | √                          |           |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 4                              | 94              | 0   | 5   | 1            |                            | Цикл      |
|                                |                 |     |     |              |                            |           |
| 5                              | 25 <sup>1</sup> | ... | ... | Хранение     |                            | Хранение  |
| √ - режим оптических измерений |                 |     |     |              |                            |           |

- 5) Внести следующие параметры каналов детекции:

| Fam          | Hex | Rox | Cy5 | Cy5.5 |
|--------------|-----|-----|-----|-------|
| 7 экзон SMN1 | -   | -   | ВК  | -     |

<sup>1</sup> - допускается хранение при температуре 10 °C