



740-1 2024-04-22



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления ДНК *Corynebacterium diphtheriae*
с дифференциацией токсигенных и нетоксигенных штаммов
методом ПЦР в режиме реального времени

***C. diphtheriae* Tox**

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2023/19667 от 01 марта 2023 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
2.4	Время проведения анализа	7
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	7
3.1	Специфичность анализа.....	7
3.2	Интерферирующие вещества	8
3.3	Предел обнаружения	9
3.4	Диагностические характеристики.....	9
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	10
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	12
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	13
6.1	Материал для исследования	13
6.2	Общие требования	13
6.3	Взятие материала на исследование.....	13
6.4	Транспортирование и хранение исследуемых образцов.....	14
6.5	Подготовка биологического материала человека для исследования	14
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	15
7.1	Выделение ДНК из биологического материала	15
7.2	Подготовка и проведение ПЦР	15
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	20
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ	21
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	23
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	24
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	24
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	24
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	24
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	25
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	26
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

ВК	- внутренний контроль
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИВ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
ПЦР	- полимеразная цепная реакция

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- 1.1** Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления ДНК *Corynebacterium diphtheriae* с дифференциацией токсигенных и нетоксигенных штаммов методом ПЦР в режиме реального времени (*C. diphtheriae* Tox), далее по тексту – набор реагентов.
- 1.2** Назначение: набор реагентов предназначен для выявления ДНК и дифференциации токсигенных и нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* в биологическом материале человека (мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи) и бактериальных культурах из этого биоматериала методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.
- 1.3** Функциональное назначение: диагностика *in vitro*, скрининг.
- 1.4** Показания к проведению исследований: симптомы инфекционного заболевания, вызванного *C. diphtheriae*, и эпидемиологически связанные случаи; скрининг бессимптомного носительства.
Противопоказания к применению: 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.
- 1.8** Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

REF R1-P445-S3/4, фасовка S, стрипы			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	6 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	6 шт.		

REF R1-P445-23/4, фасовка S, пробирки			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	48 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

REF R1-P445-UA/9, фасовка U			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации	Прозрачная жидкость от бесцветного до розового цвета	1 пробирка	600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	30 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	600 мкл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

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

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 48 определений в фасовке S (что соответствует при одновременном исследовании 46 неизвестным образцам, отрицательному контрольному образцу и положительному контрольному образцу); на 96 определений в фасовке U (что соответствует при одновременном исследовании 94 неизвестным образцам, отрицательному контрольному образцу и положительному контрольному образцу).

2.3 Принцип метода

Метод: полимеразная цепная реакция с детекцией результатов: в режиме реального времени; мультиплексный качественный анализ.

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

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Для фасовки S «горячий» старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только после плавления парафина. «Горячий» старт для фасовки U обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94 °C в течение 5 минут. Это исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

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 специальными приборами. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации специфической ДНК, включены флуоресцентные метки Fam и Cy5. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель NheX.

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

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Т а б л и ц а 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>C. diphtheriae</i> (tox+)	ВК	-	<i>C. diphtheriae</i>	-

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка), ПЦР-амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов *C. diphtheriae* Tox.

2.4 Время проведения анализа (не включая пробоподготовку): от 1,5 часов.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1 Специфичность анализа

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК *C. diphtheriae*, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует положительные результаты амплификации специфического продукта (фрагмента ДНК *C. diphtheriae*).

В образцах биологического материала человека, содержащих ДНК токсигенных *C. diphtheriae*, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует положительные результаты амплификации специфических продуктов (фрагментов ДНК *C. diphtheriae* и гена токсина - *C. diphtheriae* tox gene).

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК *C. diphtheriae*, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует отрицательные результаты амплификации специфического продукта и положительный результат амплификации внутреннего контроля (ВК).

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при исследовании в высокой концентрации ДНК микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания, и/или в норме присутствующих в локусах взятия биоматериала: *Streptococcus bovis*, *Streptococcus sanguinis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. и ДНК человека в концентрации более 750 нг на образец.

При исследовании аналитической специфичности показано наличие специфических и отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при исследовании препаратов ДНК в высокой концентрации, выделенных из 33 культур: семи *Corynebacterium ulcerans* (tox+), четырех *Corynebacterium ulcerans* (NTTB, tox+), четырех *Corynebacterium ulcerans* (tox-), пяти *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (tox-), пяти *Corynebacterium diphtheriae* (биотип *mitis*, tox-), пяти *Corynebacterium diphtheriae* (биотип *gravis*, tox-), трех *Corynebacterium diphtheriae* (NTTB, tox+).

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (недостовверных) результатов. Признаком полного ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта (см. 2.3, 9.3).

К ингибиторам ПЦР, которые могут присутствовать в образце ДНК, отнесены следующие эндогенные и экзогенные интерферирующие вещества: гемоглобин, слизь (муцин) и лекарственные препараты (пиносол, хлоргексидина биглюконат, ринофлуимуцил, октенисепт), находящиеся в образце ДНК в результате неполного удаления в ходе выделения ДНК из образца биоматериала, а также изопропиловый спирт и метилацетат, остающиеся в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось ингибирование ПЦР, представлены в таблице ниже.

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Концентрация ИВ
Эндогенные вещества		
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи	Гемоглобин	0,35 мг/мл
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	Слизь (муцин)	20 %
Экзогенные вещества		
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	Пиносол	2%
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи	Хлоргексидин биглюконат	5%
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	Ринофлуимуцил	5%
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи	Октенисепт	2%
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи, бактериальные культуры	Изопропиловый спирт	10%
мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи, бактериальные культуры	Метилацетат	10%

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения составляет 5 копий ДНК на амплификационную пробирку, что соответствует 10^3 копий ДНК/мл. Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений лабораторного контрольного образца (ЛКО).

3.4 Диагностические характеристики

Оценка диагностических характеристик (диагностической чувствительности и диагностической специфичности) проводилась при подсчете количества правильно определенных *Corynebacterium diphtheriae* с дифференциацией токсигенных и нетоксигенных штаммов, выявляемых с использованием испытываемого набора реагентов «C. diphtheriae Tox».

Вид биоматериала	C. diphtheriae нетоксигенных штаммов (ген tox-)		C. diphtheriae токсигенных штаммов (ген tox+)	
	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Мазки/соскобы со слизистой оболочки носоглотки	100% (92,9 - 100)	100% (97,6 - 100)	100% (92,9 - 100)	100% (97,6 - 100)
Мазки с пораженных участков кожи	100% (92,9 - 100)	100% (97,6 - 100)	100% (92,9 - 100)	100% (97,6 - 100)

Эффективность медицинского изделия при исследовании бактериальных культур составила 100% (Рист=95,5%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, 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».

Исследуемые 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, диагностическим методом, 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 клинико-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 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 (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 U	
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	-	-
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	-	-
Минеральное масло	Нет опасных веществ	-	-
Смесь для амплификации	-	Нет опасных веществ	-
Полимераза ТехноTaq MAX	-	Нет опасных веществ	-
ПЦР-буфер	-	Нет опасных веществ	-
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%	Является безопасным для конечного пользователя

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 контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Не допускается 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.

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 *C. diphtheriae* Тох требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S		Фасовка U	
	стрипы	пробирки	ручной	автоматизированный
ПЦР-бокс	да	да	да	да
амплификаторы детектирующие ДТпрайм» (РУ № ФСР 2011/10229), «ДТлайт» (РУ № ФСР 2011/10228), ДТ-96 (РУ № ФСР 2007/01250) (ООО «НПО ДНК-Технология»)	да	да	да	да
амплификатор детектирующий ДТпрайм *Х* (РУ № ФСР 2011/10229) (ООО «НПО ДНК-Технология») (при использовании микропланшет 384 лунки)	нет	нет	нет	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	нет	нет	нет
холодильник или холодильная камера	да	да	да	да
морозильная камера	нет	нет	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл и для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	да	да	да
дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объем жидкости от 0,5 до 10 мкл, от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да	да	да
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 10 мкл	нет	нет	да	нет
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 20 мкл	да	да	да	нет
одноразовые наконечники для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 200 мкл, 1000 мкл	да	да	да	нет
штатив для дозаторов	да	да	да	да
пробирки объемом 1,5 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз	нет	нет	да	нет
пробирки амплификационные объемом 0,2 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз	нет	нет	да	нет
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да	да	да
устройство дозирующее ДТстрим 12М1 или ДТстрим 15М1 (ООО «НПО ДНК-Технология»)	нет	нет	нет	да
устройство для запечатывания планшет ДТпак	нет	нет	нет	да
центрифуга с RCF(g) не ниже 500, с адаптером для микропланшет	нет	нет	нет	да
полимерная термопленка для запечатывания микропланшет ПЦР	нет	нет	нет	да
микропланшет ПЦР	нет	нет	нет	да
транспортная среда (рекомендуется Транспортная среда для биопроб STOP-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640 или STOP-М по ТУ 21.20.23-102-46482062-2019, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2019/9453)	да			
набор/комплект реагентов для выделения ДНК из биологического материала (рекомендуются ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС (производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия); ПРОБА-МЧ-РАПИД, ПРОБА-ОПТИМА (производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия)	да			

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазки с пораженных участков кожи и бактериальные культуры из этого биоматериала.

6.2 Общие требования

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.

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

ВНИМАНИЕ! Перед выделением ДНК требуется предварительная обработка образцов биологического материала (6.5).

6.3.1 Мазки/соскобы со слизистой оболочки носо- и ротоглотки; мазки с пораженных участков кожи

Взятие материала осуществляется с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной процедуре (Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции. Методические указания МУК 4.2.3065-13) в соответствии с видом биологического материала (например, Зонд-тампон для отбора, транспортировки и хранения биологических проб, РУ № ФСЗ 2012/11835, Зонд медицинский одноразовый стерильный по ТУ 32.50.13-002-28731857-2020, РУ № РЗН 2021/13989).

После взятия биологического материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, 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 крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

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

6.3.2 Бактериальные культуры

Взятие материала с жидких и плотных сред осуществляется при помощи одноразовой микробиологической петли, шпателя или пипетки.

Поместите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5-2,0 мл с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов бактериальных культур для ПЦР-исследований, рекомендованное количество жидкой бактериальной культуры или колоний с плотной среды.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.4 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

Сроки транспортирования и хранения мазков/соскобов со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазков с пораженных участков кожи, бактериальных культур определяются инструкциями к рекомендуемым транспортным средам и наборам/комплектam реагентов для выделения ДНК.

6.5 Подготовка биологического материала человека для исследования

Проведите пробоподготовку мазков/соскобов со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазков с пораженных участков кожи, бактериальных культур согласно инструкциями к рекомендуемым транспортным средам и наборам/комплектam реагентов для выделения ДНК.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в соответствии с инструкцией к используемому набору/комплекту реагентов.

Для выделения ДНК рекомендуется использовать «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009» в форме комплектации: комплект ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867); Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в следующих формах комплектации: ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08696), Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ) в следующей 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) (ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496).

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объеме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Фасовка S

7.2.1.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином для исследуемых образцов, для отрицательного контрольного образца «К-» и положительного контрольного образца «К+».

Пример: необходимо проанализировать 4 образца. Для этого необходимо промаркировать 4 пробирки для исследуемых образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.

7.2.1.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

- 7.2.1.3 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.
- 7.2.1.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле минерального масла (около 20 мкл). Закройте пробирки.
- 7.2.1.5 Встряхните пробирки с препаратом ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при RCF(g) 16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 3. 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.
- 7.2.1.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К-» и «К+», ДНК не вносится.
 - 7.2.1.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).
 - 7.2.1.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.
 - 7.2.1.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 - 7.2.1.10 Установите все пробирки/стрипы в блок амплификатора.
 - 7.2.1.11 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора в режиме «Работа с прибором» и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведенной в таблице А.1 (Приложение А).

Примечания:

1. Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объём реакционной смеси и т.п.) можно сохранить в виде готового файла.
2. Для удобства работы при первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «C. diphtheriae tox».
При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР.

7.2.2 Фасовка U, ручное дозирование

- 7.2.2.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых амплификационных пробирок объёмом 0,2 мл для исследуемых образцов, для отрицательного контрольного образца «К-» и положительного контрольного образца «К+».

Пример: необходимо проанализировать 4 образца. Для этого необходимо промаркировать 4 пробирки для исследуемых образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.

- 7.2.2.2 Встряхните пробирку со смесью для амплификации в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

- 7.2.2.3 Внесите в каждую промаркированную пробирку по 6,0 мкл смеси для амплификации.

- 7.2.2.4 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq МАХ в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

Примечание – Полимеразу ТехноТaq МАХ следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.2.2.5 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq МАХ. Для этого смешайте в отдельной пробирке:

- 6,0 x (N+1) мкл ПЦР-буфера,
- 0,3 x (N+1) мкл полимеразы ТехноТaq МАХ,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-», «К+».

Пример: необходимо проанализировать 4 образца, «К-», «К+». Промаркированных пробирок – 6. Необходимо приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ для 7 (6+1) пробирок, т.е. 42 мкл ПЦР-буфера + 2,1 мкл полимеразы ТехноТaq МАХ.

- 7.2.2.6 Встряхните пробирку в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

Примечание – Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.2.2.7 Добавьте в пробирки со смесью для амплификации по 6,0 мкл смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ. Закройте пробирки.

Примечание – После добавления смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ в пробирки со смесью для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить 7.2.2.8 – 7.2.2.13.

7.2.2.8 Встряхните пробирки с препаратом ДНК, положительным контрольным образцом и отрицательным контрольным образцом в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при RCF(g) 16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
3. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Закрывайте пробирки плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.2.9 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки 6,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К-» и «К+», ДНК не вносится.

7.2.2.10 Внесите в пробирку, промаркированную «К-» 6,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

7.2.2.11 Внесите в пробирку, промаркированную «К+» 6,0 мкл положительного контрольного образца.

7.2.2.12 Центрифугируйте все пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.2.13 Установите все пробирки в блок амплификатора.

7.2.2.14 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора в режиме «Работа с прибором» и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 18 мкл, по программе амплификации, приведенной в таблице А.2 (Приложение А).

Примечания:

1. Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объем реакционной смеси и т.п.) можно сохранить в виде готового файла.
2. Для удобства работы при первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «C. diphtheriae tox_U».

При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР.

7.2.3 Фасовка U, с использованием дозирующего устройства ДТстрим

- 7.2.3.1 Встряхните пробирку со смесью для амплификации в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.3.2 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq МАХ в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

Примечание – Полимеразу ТехноТaq МАХ следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.2.3.3 Следуя указаниям ПО дозирующего устройства ДТстрим, в отдельной пробирке приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq МАХ.
- 7.2.3.4 Встряхните пробирку в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.3.5 Встряхните пробирки с препаратом ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при RCF(g) 16000 в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД пробирки с препаратом ДНК после встряхивания помещаются в магнитный штатив на дозирующем устройстве. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

- 7.2.3.6 Установите пробирки: со смесью для амплификации, со смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ, с препаратами ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.
- 7.2.3.7 Поместите аккуратно, не встряхивая микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшет ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.
- 7.2.3.8 Проведите запечатывание микропланшет ПЦР полимерной термопленкой согласно инструкции к прибору ДТпак.
- 7.2.3.9 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 500 в течение 30 с.
- 7.2.3.10 Установите микропланшет ПЦР в блок амплификатора.
- 7.2.3.11 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора в режиме «Работа с прибором» и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 18 мкл, по программе амплификации, приведенной в таблице А.2 (Приложение А).

Примечания:

1. Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объём реакционной смеси и т.п.) можно сохранить в виде готового файла.
2. Для удобства работы при первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «C. diphtheriae tox_U».

При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР.

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

- 8.1 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.
- 8.2 Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.
- 8.3 После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов. На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла по всем используемым каналам для каждой пробирки в термоблоке.

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1** Учёт результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.
- 9.2** Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 2. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.
- 9.3** Для образцов, для которых получены отрицательные результаты по трем каналам детекции, в графе «Результат» будет указано «нд» (недостовверный результат). Недостовверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, 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, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).
- 9.4** При получении для положительного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице 2, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.
- 9.5** При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице 2, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

Таблица 2 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Результат		Интерпретация результата
Fam	Hex	Cy5			
Анализируемые образцы					
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружен ген <i>tox C. diphtheriae</i> , обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> токсигенных штаммов (ген <i>tox</i> +) *
Ср не указан	Не учитывается	Ср ≤ 35	+	Ген <i>tox C. diphtheriae</i> не обнаружен, обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> нетоксигенных штаммов (ген <i>tox</i> -)
Ср не указан	Не учитывается	Ср > 35	+	Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> . Количество ДНК недостаточно для определения наличия или отсутствия гена <i>tox C. diphtheriae</i>	Полученный результат может быть связан с низким содержанием <i>C. diphtheriae</i> в клиническом образце, с перекрёстной контаминацией высококопийными образцами или с ингибированием ПЦР. Следует однократно провести повторное взятие биоматериала и/или повторное выделение ДНК и проведение ПЦР. В случае повторения результата, следует выдать итоговый результат «Обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i> . Количество ДНК недостаточно для определения наличия или отсутствия гена <i>tox C. diphtheriae</i> ».
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	Ген <i>tox C. diphtheriae</i> не обнаружен, ДНК <i>C. diphtheriae</i> не обнаружена	Не обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	нд	Обнаружен ген <i>tox C. diphtheriae</i> , ДНК <i>C. diphtheriae</i> не обнаружена	Недостовверный результат
Ср не указан	Ср не указан	Ср не указан	нд	Недостовверный результат	Недостовверный результат
Положительный контрольный образец					
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружен ген <i>tox C. diphtheriae</i> , обнаружена ДНК <i>C. diphtheriae</i>	Положительный результат. Результаты постановки валидны
Отрицательный контрольный образец					
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	Ген <i>tox C. diphtheriae</i> не обнаружен, ДНК <i>C. diphtheriae</i> не обнаружена	Отрицательный результат. Результаты постановки валидны

* - истинная токсигенность во всех случаях должна быть подтверждена фенотипическими тестами.

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 термоконтейнеров, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 10.1.2 Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 25 °С внутри контейнера не более 5 суток.
- 10.1.3 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.
- 10.2.2 Полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.2.3 Смесь для амплификации и смесь для амплификации, запечатанную парафином, 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.
- 10.2.4 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:
- 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 и смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора реагентов;
 - полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °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>		Обратитесь к инструкции по применению
	Предел температуры		Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> тестов		Изготовитель
	Использовать до		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		

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. 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 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании медицинских изделий, на этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения

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 EN 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:

- 1) ООО «ДНК-Технология ТС» 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20, строение 4.
- 2) ООО «НПО ДНК-Технология» 142281, Россия, Московская обл. г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов C. diphtheriae Тох, 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

Таблица А.1 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» и ДТ-96, 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	10 ¹	...	...	Хранение		Хранение

Таблица А.2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» и ДТ-96, ДТпрайм *Х*, фасовка U

№ 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	10 ¹	...	...	Хранение		Хранение

¹ - допускается хранение при температуре 25 °C