



849-1 2024-04-22



## **ИНСТРУКЦИЯ**

по применению набора реагентов  
для выявления РНК вирусов гриппа А и гриппа В  
методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени

### **ГриппКомплекс А/В**

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2023/19809 от 15 марта 2023 года

**ВНИМАНИЕ!** Изучите инструкцию перед началом работы

## СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ .....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ .....	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	7
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ .....	9
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ .....	11
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ .....	12
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА .....	14
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ .....	19
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ .....	19
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ .....	21
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ .....	22
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ .....	22
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ .....	22
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	22
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ .....	23
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ .....	24
	ПРИЛОЖЕНИЕ А. ....	25
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б .....	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
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты
ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ОТ	- обратная транскрипция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота

## **1 ПРЕНАДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

- 1.1** Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А и гриппа В методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ГриппКомплекс А/В), далее по тексту – набор реагентов.
- 1.2** Назначение: набор реагентов предназначен для выявления РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.
- 1.3** Функциональное назначение: диагностика in vitro.
- 1.4** Показания к проведению исследования:
- наличие симптомов и контакт с больными ОРВИ;
  - пребывание в очагах инфекции (с целью раннего выявления возможного инфицирования и предотвращения дальнейшего распространения);
  - дифференциальная диагностика ОРВИ.
- 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 клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.
- 1.7** Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-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 R3-P449-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная жидкость от бесцветного до розового цвета под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" <sup>1</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец <sup>1</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

REF R3-P449-23/9, фасовка S, пробирки			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная жидкость от бесцветного до розового цвета под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" <sup>1</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец <sup>1</sup>	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

96 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

### 2.3 Принцип метода

**Метод:** обратная транскрипция РНК с последующей амплификацией синтезированных фрагментов кДНК методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени; качественный анализ.

**Принцип метода** основан на использовании процесса обратной транскрипции РНК и последующей амплификации кДНК, заключающейся в повторяющихся циклах

<sup>1</sup> - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «K+», «Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"» указывается как «РНК-ВК "А"»

температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Таq-полимеразой.

Этапы обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК проводят в одной пробирке, что повышает чувствительность метода, уменьшает вероятность контаминации и снижает время проведения исследования.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Горячий старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина или использования Таq-полимеразы, блокированной антителами. Старт полимеразной цепной реакции происходит только при расплавлении парафина или температурной диссоциации комплекса Таq-полимеразы и антител, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В состав набора реагентов включен внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", который предназначен для оценки этапа выделения РНК и качества прохождения обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

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

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продукта амплификации искомой кДНК вирусов гриппа А (Influenza A virus), включена флуоресцентная метка Fam.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продукта амплификации искомой кДНК вирусов гриппа В (Influenza B virus), включена флуоресцентная метка Cy5.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продукта внутреннего контрольного образца, входит флуоресцентный краситель Hex. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red	Cy5.5/Crimson
Influenza A virus	ВК*	-	Influenza B virus	-

\* - Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"

Исследование состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификация кДНК с одновременной детекцией результатов с использованием набора реагентов ГриппКомплекс А/В.

**2.4** Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2 часов

### 3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала, содержащих РНК выявляемых вирусов, во время проведения амплификации детектирующий амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции по заявленным каналам детекции.

В образцах биологического материала, не содержащих РНК выявляемых вирусов, при проведении амплификации экспоненциальный рост уровня флуоресценции по заявленным каналам детекции отсутствует.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждой из систем олигонуклеотидов, входящих в состав набора по отношению к вирусам, определяемым другими системами.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце РНК Human Coronavirus 229E, Human Coronavirus HKU-1, Human Coronavirus NL-63, Human Coronavirus OC-43, Human Metapneumovirus, Human Parainfluenza virus type 2, Human Parainfluenza virus type 3, Human Parainfluenza virus type 4, Human Parainfluenza virus type 1, Human Rhinovirus, MERS-CoV, Respiratory syncytial virus, SARS-CoV-2, ДНК Human Adenovirus, Human Bocavirus, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydomyces pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant), *Streptococcus pneumoniae*, а также ДНК человека в концентрации до  $10^8$  копий/мл образца.

В ходе проведения валидационных испытаний показано наличие специфических результатов амплификации при наличии в образце РНК, выделенной из 15 штаммов гриппа А субтипов А(Н1N1)рdm09 и А(Н3N2), а также 11 штаммов гриппа В различных эпидемических сезонов.

#### 3.2 Интерферирующие вещества

Наличие в образцах биологического материала интерферирующих веществ, которые могут ингибировать ПЦР, может являться причиной сомнительных (неопределённых) результатов. Признаком полного ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфических продуктов.

К интерферирующим веществам, ингибирующим ПЦР, отнесены:

- эндогенные вещества (цельная кровь, лейкоциты, слизь);
- экзогенные (вещества, добавляемые в образцы биоматериала во время пробоподготовки (изопропиловый спирт и метилацетат), местные лекарственные препараты).

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение амплификации, составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца РНК, изопропиловый спирт – 100 мкл/мл образца РНК, метилацетат – 100 мкл/мл образца РНК.

Интерферирующее влияние таких веществ, как лейкоциты, слизь, местные лекарственные препараты, которые могут содержаться в образцах биоматериала в клинически значимых концентрациях, не наблюдалось.

Для снижения количества интерферирующих веществ, ингибирующих ПЦР, необходимо соблюдать правила взятия биологического материала. При подозрении на наличие в образце большого количества ингибиторов ПЦР рекомендуется выбирать методы выделения нуклеиновых кислот, позволяющие произвести их максимальное удаление из образца, не рекомендуется использовать экспресс-методы выделения нуклеиновых кислот.

### 3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения: 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку.

Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений двух серий лабораторного контрольного образца (ЛКО).

Предел обнаружения РНК в образце биоматериала зависит от метода пробоподготовки образца и конечного объёма выделенной РНК (объёма элюции).

Предел обнаружения 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку соответствует следующим значениям концентрации РНК в образце при использовании комплектов/наборов реагентов для выделения нуклеиновых кислот:

Биоматериал	ПРОБА-НК (объем полученного препарата 50 мкл)	ПРОБА-НК-S (объем полученного препарата 50 мкл)	ПРОБА-МЧ-НК-S; ПРОБА-МЧ DWP (объем полученного препарата 100 мкл)
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды;	1000 копий/мл образца	1000 копий/мл образца	2000 копий/мл образца
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	1000 копий/мл образца	Не применяется	Не применяется
Мокрота (предобработка с $\text{Na}_3\text{PO}_4$ )	2000 копий/мл образца	Не применяется	Не применяется
Мокрота (предобработка с муколизином)	5000 копий/мл образца	Не применяется	Не применяется

### 3.4 Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Вирус	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Мазок из носоглотки, ротоглотки	Influenza A virus	100% (90,51-100)	100% (93,84-100)
	Influenza B virus	100% (89,42-100)	100% (94,22-100)
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	Influenza A virus	100% (88,43-100)	100% (92,89-100)
	Influenza B virus	100% (88,43-100)	100% (92,89-100)
Мокрота	Influenza A virus	100% (90,26-100)	100% (89,72-100)
	Influenza B virus	100% (89,72-100)	100% (90,26-100)
<b>Весь биоматериал</b>	<b>Influenza A virus</b>	<b>100% (96,48-100)</b>	<b>100% (97,44-100)</b>
	<b>Influenza B virus</b>	<b>100% (96,27-100)</b>	<b>100% (97,54-100)</b>

#### 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, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

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

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

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

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

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

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

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение нуклеиновых кислот 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 (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 опасных компонентов	Указание на риски
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Является безопасным для конечного пользователя
ОТ-ПЦР-буфер	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Является безопасным для конечного пользователя
Фермент Taq/RT	Нет опасных веществ	-
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Является безопасным для конечного пользователя
Положительный контрольный образец	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Является безопасным для конечного пользователя

При работе с набором реагентов 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 аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

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

Не использовать набор реагентов:

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

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

## 5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование и материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S, пробирки	Фасовка S, стрипы
ПЦР-бокс	да	да
детектирующий амплификатор планшетного типа: ДТпрайм» (РУ № ФСР 2011/10229), «ДТлайт» (РУ № ФСР 2011/10228), ДТ-96 (РУ № ФСР 2007/01250) ООО «НПО ДНК-Технология»;	да	да
детектирующий амплификатор роторного типа: Rotor-Gene Q (РУ № ФСЗ 2010/07595) (QIAGEN)	да	нет
микроцентрифуга-вортекс	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	нет	да
холодильник с морозильной камерой	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	да	да
дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объемом, позволяющие отбирать объем 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, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да
штатив для дозаторов	да	да
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками	да	да
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
<p>Комплект/набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала рекомендуются:</p> <p>«Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009» в комплектации ПРОБА-НК, производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867 или «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК-S)» по ТУ 21.20.23-117-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/11296 или «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ-НК-S)» по ТУ 21.20.23-118-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15267 или «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ DWP)» по ТУ 21.20.23-062-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15090</p>		

## 6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

### 6.1 Материал для исследования

Для исследования используют биологический материал человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота).

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

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

### 6.2 Общие требования

6.2.1 На этапах подготовки биоматериала и выделении из него РНК, за исключением этапа отбора надосадочной жидкости с использованием аспиратора, используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.2.2 При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, аккуратно вносите жидкости, не касаясь стенок пробирок. При касании к стенке пробирки смените наконечник. Наконечник следует менять при каждом удалении раствора из образца.

6.2.3 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить образец/реагент или из которой будете забирать жидкость, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

### 6.3 Взятие материала на исследование

#### 6.3.1 Мокрота

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

После сбора материала флакон плотно закрывают и маркируют.

Примечание:

Мокрота подлежит предобработке. Процедура предобработки мокроты раствором трёхзамещенного фосфорнокислого натрия (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) или муколизином, приведена в инструкции к комплекту реагентов «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС)», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867, раздел «Взятие и подготовка клинического материала» (Мокрота (способ 1 и способ 2)).

### 6.3.2 Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират

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

### 6.3.3 Мазок из носоглотки, ротоглотки

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

После взятия 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 разбрызгивания жидкости.

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.

## 6.4 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

### 6.4.1 Мокрота

Образцы мокроты допускается хранить:

- при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) – не более 6 часов;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 3 суток.

### 6.4.2 Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират

Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират допускается хранить:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С – не более одной недели.

**ВНИМАНИЕ!** Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

### 6.4.3 Мазок из носоглотки, ротоглотки

Условия транспортирования и хранения мазков из носоглотки, ротоглотки определяются инструкциями к рекомендуемым транспортным средам и комплектам/наборам реагентов для выделения РНК.

Дальнейшая обработка указанных выше видов биологического материала осуществляется согласно инструкциям к используемым комплектам/наборам реагентов для выделения РНК.

## 7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

**ВНИМАНИЕ!** Диапазон вирусной нагрузки для вирусов гриппа может варьировать в широких пределах. В связи с этим при выполнении исследований в клинической лаборатории серьезную опасность представляет риск кросс-контаминации между образцами на всех этапах работы, особенно при аликвотировании и выделении РНК. Перекрестная контаминация высококопийным биоматериалом может приводить к появлению спорадических ложноположительных результатов.

Для предупреждения кросс-контаминации биоматериалом в лаборатории рекомендуется выполнение следующих правил:

1. Необходимо проводить визуальную оценку поступившего биоматериала и выбраковку всех образцов, если среди них есть пробирки с нарушенной герметичностью.
2. По возможности выделять в отдельный поток образцы от пациентов из стационара с симптомами острой инфекции и анализировать их отдельно от остальных образцов (биоматериал для скрининга контактировавших лиц и пациентов с легким течением заболевания). Работу с предполагаемыми высококопийными образцами желательно выполнять в отдельном боксе или после работы с предполагаемыми низкокопийными образцами.
3. Обязательно выполнять постановку отрицательных контрольных образцов, начиная с этапа выделения РНК, в каждом протоколе.
4. Использовать на всех этапах исследования наконечники с аэрозольными фильтрами.
5. Четко соблюдать методику выполнения исследования, открывать пробирки типа Эппендорф при помощи пинцета (не допускать касаний руки в перчатке внутренней части крышки пробирки); при внесении реагентов не касаться наконечником пробирки (если это произошло, сразу заменить наконечник).

### 7.1 Выделение РНК

Для выделения РНК из мазков из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, мокроты используют комплекты/наборы реагентов для выделения РНК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке.

Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту/набору реагентов.

**ВНИМАНИЕ!** Объем полученного препарата РНК должен составлять не более 50 мкл. В случае применения для выделения РНК наборов реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S и ПРОБА-МЧ DWP возможно увеличение объема до 100 мкл.

**ВНИМАНИЕ!** Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Допускается однократное замораживание и хранение препарата РНК при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток.

Таблица 2 – Комплекты/наборы реагентов, валидированные для выделения РНК для дальнейшего исследования набором реагентов ГриппКомплекс А/В

Комплект/набор реагентов, РУ	Комплектация	Биоматериал
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867	<b>ПРОБА-НК</b>	Мазки из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота
	<b>ПРОБА-НК (сокращенная методика в соответствии с Приложением А)</b>	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК-S), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/11296	<b>ПРОБА-НК-S</b>	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ-НК-S), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15267	<b>ПРОБА-МЧ-НК-S</b>	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ DWP), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15090	<b>ПРОБА-МЧ DWP</b>	Мазки из носоглотки, ротоглотки

7.1.1 Особенности предобработки биоматериала для последующего исследования с применением набора реагентов ГриппКомплекс А/В

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

Для выделения используется **100 мкл образца**.

7.1.2 Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

#### **Внутренний контрольный образец**

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно добавление **внутреннего контрольного образца** в клинические образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот.

В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК необходимо использовать **внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов ГриппКомплекс А/В**.

РНК-ВК "А" следует использовать **в объеме 10 мкл на образец**.

Примечание – Внутренний контрольный образец (РНК-ВК) и внутренний контрольный образец (ДНК-ВК) из комплекта реагентов ПРОБА-НК при выделении РНК не используют.

### Отрицательный контрольный образец

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование **отрицательного контрольного образца** с этапа выделения нуклеиновых кислот.

На этапе выделения нуклеиновых кислот обязательно подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы выделения одновременно с выделением РНК из клинических образцов.

В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор в объёме, указанном в инструкции к комплекту/набору реагентов для выделения нуклеиновых кислот, или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего комплекта/набора реагентов.

#### 7.2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

**ВНИМАНИЕ!** При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со 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 Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 пробирок для исследуемых образцов; одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 8.

7.2.2 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер» и «Фермент Taq/RT» и центрифугируйте в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** Фермент Taq/RT необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

Количество реагентов рассчитано не более чем на 12 постановок при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в одной постановке.

7.2.3 Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT. Для этого смешайте в отдельной пробирке:

- 15 x (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера;
- 0,5 x (N+1) мкл фермента Taq/RT,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К-» и «К+».

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Промаркированных пробирок – 8. Нужно приготовить смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT для 9 (8+1) пробирок, т.е. 135 мкл ОТ-ПЦР-буфера + 4,5 мкл фермента Taq/RT.

**ВНИМАНИЕ!** При взятии фермента Taq/RT необходимо погружать наконечник не более чем на 1,0 мм и соблюдать правила дозирования вязких жидкостей. Тщательно смыть остатки фермента Taq/RT с наконечника пипетированием не менее 5 раз.

7.2.4 Тщательно перемешайте содержимое пробирки с приготовленной смесью ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа.

7.2.5 Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

7.2.6 Встряхните пробирки с исследуемыми образцами и контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок/стрипов, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.7 Внесите, не повреждая слой парафина, в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 10 мкл полученного из образцов препарата РНК. В пробирки «К-» и «К+» РНК не вносится.

7.2.8 Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К-», 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.

7.2.9 Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К+», 10 мкл положительного контрольного образца.

7.2.10 Центрифугируйте пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе (при использовании для проведения ПЦР прибора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).

7.2.11 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл, по программам амплификации, приведенным в таблицах 3, 4.

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт», ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	20	0	1		Цикл
2	95	5	0	1		Цикл
3	94	0	10	5		Цикл
	64	0	10		√	
4	94	0	5	45		Цикл
	64	0	10		√	
5	80	0	1	1		Цикл
6	10 <sup>1</sup>	...	...	Хранение		Хранение

√ - режим оптических измерений

Таблица 4 – Программа амплификации для прибора Rotor-Gene Q

№ /Cycling	Температура, °С /Temperature	Время /Hold Time, sec	Количество циклов /Cycle Repeats
Cycling	32 deg	1200	1 time
Cycling 2	95 deg	300	1 time
Cycling 3	94 deg	10	50 times
	60 deg √	15	

√ - режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам Green (Fam), Yellow (Hex) и Red (Cy5) при 60 °С

Примечания:

1. Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объём реакционной смеси и т.п.) в приборах серии ДТ, можно сохранить в виде готового файла.
2. Для СИТО диагностики допускается использовать укороченную программу амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм» и «ДТ-96» (Приложение Б).

**ВНИМАНИЕ!** Не допускается использовать укороченную программу амплификации при проведении рутинных исследований.

3. Для удобства работы при первом проведении ОТ-ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста.
4. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол 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 ОТ-ПЦР.

<sup>1</sup> - допускается хранение при температуре 25 °С

## 8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола и анализ результатов проводятся в соответствии с инструкцией к прибору.

## 9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

**9.1** Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов (таблица 5).

Таблица 5 – Интерпретация результатов исследования контрольных образцов

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Cy5/Red	
<b>Отрицательный контрольный образец</b>			
Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
<b>Положительный контрольный образец</b>			
<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	Положительный результат Результаты постановки валидны

**9.2** В биологических образцах, содержащих РНК вирусов, выявляемых набором реагентов, детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по соответствующему каналу детекции ((Fam/Green или Cy5/Red), таблица 6).

**9.3** В биологических образцах, не содержащих РНК вирусов, выявляемых набором реагентов, и в отрицательном контрольном образце детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Hex/Yellow (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост флуоресценции по каналам Fam/Green и Cy5/Red отсутствует.

**9.4** Результат оценивается программой как недостоверный (нд) в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для специфического продукта (по каналам Fam/Green и Cy5/Red) и для внутреннего контрольного образца (по каналу Hex/Yellow).

**9.5** Недостоверный результат может быть вызван присутствием ингибиторов в препарате нуклеиновых кислот, полученном из биологического материала; ошибками преаналитического этапа, неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторное выделение препарата нуклеиновых кислот, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).

Таблица 6 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Cy5/Red	
<b>Анализируемые образцы</b>			
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	Ср/Ct не указан	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus</b>
Ср/Ct не указан	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza B virus</b>
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus Обнаружена РНК Influenza B virus</b>
Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	Не обнаружена РНК выявляемых вирусов
Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Недостовверный результат. Требуется либо повторное выделение препарата РНК, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно)

**9.6** При отсутствии положительного результата (экспоненциального роста флуоресценции по каналам Fam/Green и Cy5/Red) в положительном контрольном образце результаты всей постановочной серии бракуют.

**9.7** При наличии положительного результата (экспоненциального роста флуоресценции по каналам Fam/Green или Cy5/Red) в отрицательном контрольном образце (К-), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

### Предупреждения

Единичный отрицательный результат исследования, особенно если это образец из верхних дыхательных путей, не исключает инфекции.

Отрицательные результаты не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.

Если для биологического образца регистрируется рост уровня флуоресценции для специфического продукта ранее 25 цикла по Ср (Ср менее 25) или ранее 22 цикла по Ст (Ст менее 22), то это говорит о высокой первоначальной концентрации РНК соответствующего возбудителя. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата при микст-инфицировании для возбудителя, РНК которого присутствует в низкой концентрации. Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ОТ-ПЦР для выделенного препарата РНК с использованием набора реагентов для индивидуального выявления соответствующего вируса.

## 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 Для части, хранящейся при температуре от 2 °С до 8 °С, допускается транспортирование 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 Для части, хранящейся при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С, допускается транспортирование 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 фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки/стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2 Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

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 фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки/стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте;
- фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

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 РЕМОТ 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 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:**

ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4

По вопросам, касающимся качества набора реагентов ГриппКомплекс А/В, 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)

**Сокращенная методика выделения РНК  
из исследуемого материала (мазки из носоглотки и ротоглотки)  
с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК**

Примечание – В случае выпадения осадка в лизирующем растворе, флакон прогреть при температуре 65 °С до полного растворения осадка.

1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл (с защёлкивающимися крышками, если необходимо) с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
2. Внесите в каждую пробирку по 10 мкл предварительно перемешанного на микроцентрифуге-вортексе внутреннего контрольного образца РНК-ВК "А" из набора реагентов ГриппКомплекс А/В.
3. Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
4. В пробирки для исследуемых образцов добавьте по 100 мкл исследуемого материала. В пробирку, маркированную «К-», добавьте 100 мкл отрицательного контрольного образца.
5. Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
6. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
7. Центрифугируйте пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
8. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
9. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
10. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.
11. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
12. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
13. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.
14. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
15. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

16. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником. Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20–30 мкл.
17. Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
18. Добавьте к осадку 50 мкл буфера для растворения, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с, и осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с.
19. Прогрейте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
20. Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 в течение 30 с при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

Препарат РНК готов для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Для возможности проведения повторного исследования оставшуюся РНК следует сразу же поместить в морозильную камеру и хранить при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток, не размораживая до постановки.

Таблица Б.1 – Укороченная программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм» и ДТ-96 (допускается использование только для СИТО диагностики)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	15	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	8		Цикл
	64	0	15		√	
4	90	0	5	40		Цикл
	64	0	15		√	
5	64	0	5	1		Цикл
6	10 <sup>1</sup>	...	...	Хранение		Хранение
√ - режим оптических измерений						

<sup>1</sup> - допускается хранение при температуре 25 °С