

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2023/19859 от 22 марта 2023 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов ОРВИ Скрин. Изучите инструкцию перед началом работы.**

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

REF R3-P541-S3/5

Информация о наборе реагентов

Назначение: Набор реагентов предназначен для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека (респираторно-синцициальный вирус, вирусы парагриппа 1, 2, 3, 4 типов, риновирус, аденовирус, метапневмовирус, коронавирусы HKU1, NL63, OC43, 229E, бокавирус) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Специализированное оборудование:

Амплификаторы детектирующие «ДТлайт», «ДТпрайм» или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»);
CFX96 (Bio-Rad Laboratories).

Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки): от 2-х часов.

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

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,5 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	100 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	250 мкл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов		24 шт.	

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнеров, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 25°С внутри контейнера не более 5 суток.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов ОРВИ Скрин, 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

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

Номер пробирки в стрипе	Выявляемый показатель, каналы детекции				Цветовая маркировка смеси
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	Human parainfluenza virus type 2	BK ¹	-	Human coronavirus 229E	Голубая
2	Human bocavirus	BK	Маркер	Human rhinovirus	
3	Human respiratory syncytial virus	BK	-	Human coronavirus HKU1	
4	Human adenovirus	BK	-	Human coronavirus NL63	
5	Human coronavirus OC43	BK	-	Human parainfluenza virus type 3	
6	Human parainfluenza virus type 4	BK	-	-	
7	Human parainfluenza virus type 1	BK	-	-	
8	Human metapneumovirus	BK	-	-	

¹ - «Внутренний контрольный образец РНК-БК "А"»

Проведение анализа

1 Выделение НК

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

Таблица 2 – Комплекты реагентов валидированные для использования совместно с набором реагентов ОРВИ Скрин

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

* - см. инструкцию для набора реагентов ОРВИ Скрин

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

Для выделения используется **100 мкл образца.**

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

П р и м е ч а н и е – Процедура предобработки мокроты муколизином приведена в инструкции к комплекту реагентов «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС)», в комплектации ПРОБА-НК или ПРОБА-НК-ПЛЮС, производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867, раздел «Взятие и подготовка клинического материала» (Мокрота (способ 2)).

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

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

2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

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

ВНИМАНИЕ! Строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

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

Примечание: Один стрип рассчитан на исследование одного образца.

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

- 2.2** Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-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 вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ! Смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT необходимо готовить непосредственно перед использованием. Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа после приготовления.

- 2.5** Добавьте в каждую стрипованную пробирку со смесью для амплификации, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

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

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения контаминации следует перед внесением НК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего. Закрывайте стрипы плотно. Препараты НК и контрольные образцы следует вынимать наконечниками с фильтром.

- 2.7** Внесите в соответствующие стрипы для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл препарата НК. В пробирки «К+», «К-» НК не вносится.

- 2.8** Внесите в пробирки стрипа, промаркированного «К+», не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца.

- 2.9** Внесите в пробирки стрипа, промаркированного «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения НК.

- 2.10** Центрифугируйте пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

- 2.11** Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл.

При использовании приборов серии ДТ: запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объем реакционной смеси и т.п.) в приборах серии ДТ, можно сохранить в виде готового файла. Для удобства работы при первом проведении ОТ-ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста. 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.

Программа амплификации для прибора CFX96 приведена в таблице 3.

- 3 Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 4.

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad Laboratories)

№ блока (Step)	Температура, °С	Время, мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	35	20:00	1
2	95	5:00	1
3	94	0:15	50
4	64 ✓	0:20	
✓- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам Fam, Hex и Cy5 при 64 °С			

Таблица 4- Интерпретация результатов исследования анализируемых образцов

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

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

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