

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени

ГриппКомплекс

Регистрационное удостоверение:
№ ФСР 2011/12014 от 15 июня 2015 года

Каталожные номера:

Вирус гриппа А (Influenza A virus):

R3-P409-23/4 (пробирки)

R3-P409-S3/4 (стрипы)

Вирус гриппа В (Influenza B virus):

R3-P410-23/4 (пробирки)

R3-P410-S3/4 (стрипы)

Вирус гриппа А и В (Influenza A&B virus):

R3-P431-23/4 (пробирки)

R3-P431-S3/4 (стрипы)

СОДЕРЖАНИЕ

1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.....	4
2.1 Состав набора	5
2.2 Количество анализируемых проб	6
2.3 Принцип метода.....	6
2.4 Время проведения анализа	7
3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	9
6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	10
7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	12
7.1 Подготовка материала к выделению РНК	12
7.2 Выделение РНК из биологического материала	13
7.3 Проведение реакции обратной транскрипции	14
7.4 Проведение полимеразной цепной реакции	16
8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	17
8.1 Регистрация результатов амплификации при использовании комплектов реагентов Influenza A virus и Influenza B virus.....	17
8.2 Регистрация результатов амплификации при использовании комплекта реагентов Influenza A&B virus	18
9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ	20
9.1 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza A virus.....	20
9.2 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza B virus.....	20
9.3 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza A&B virus.....	20
10 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.....	21
11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	22
12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	22
13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	22
14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ	22
15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	23
16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	24
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	25

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени

ГриппКомплекс

1 НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1 Набор реагентов ГриппКомплекс предназначен для выявления РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) в биологическом материале человека (мазки и смывы из полости носа и ротоглотки) и материале от падших и больных животных (мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы) *in vitro* методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.
- 1.2 Функциональное назначение: набор реагентов предназначен для использования *in vitro* (выявление РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) в биологическом материале человека и животных).
- 1.3 Набор может быть использован в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.
- 1.4 Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.
- 1.5 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории.
- 1.6 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор реагентов ГриппКомплекс выпускается в варианте исполнения «ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени».

Вариант исполнения «ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени» (маркируется «Real-time») – предназначен для детекции результатов ПЦР во время амплификации с помощью амплификаторов детектирующих.

Комплекты реагентов «Influenza A virus» и «Influenza B virus» предназначены для детектирующих амплификаторов «ДТ-322», «ДТлайт», «ДТпрайм» или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Комплект реагентов «Influenza A&B virus» предназначен только для детектирующих амплификаторов «ДТлайт», «ДТпрайм» или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология»).

2.1 Состав набора

В состав набора ГриппКомплекс, в зависимости от формы комплектации, входят следующие комплекты:

1. Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА–НК)¹ включает:

- лизирующий раствор – 1 флакон (30 мл);
- реагент для преципитации – 1 флакон (40 мл);
- промывочный раствор №1 – 1 флакон (50 мл);
- промывочный раствор №2 – 1 флакон (30 мл);
- буфер для растворения – 4 пробирки (по 1,25 мл);
- отрицательный контрольный образец – 2 пробирки (по 1,5 мл);
- внутренний контрольный образец (ДНК-ВК) – 1 пробирка (1,0 мл);
- внутренний контрольный образец (РНК-ВК) – 1 пробирка (1,0 мл).

2. Комплект реагентов для обратной транскрипции включает:

- буферный раствор для обратной транскрипции «ОТ-буфер» – 1 пробирка (100 мкл);
- обратную транскриптазу – 1 пробирка (25 мкл);
- Праймеры ОТ-RANDOM+дНТФ – 1 пробирка (50 мкл).

3. Комплект реагентов для ПЦР–амплификации кДНК вирусов гриппа А, с детекцией в режиме реального времени (*Influenza A virus*), включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 48 пробирок (по 20 мкл) или 6 стрипов по 8 пробирок (по 20 мкл);
- Таq-полимеразу – 1 пробирка (25 мкл);
- ПЦР-буфер – 1 пробирка (500 мкл);
- минеральное масло – 1 пробирка (1,0 мл);
- положительный контрольный образец – 1 пробирка (75 мкл).
- Крышки для стрипов² – 6 шт.

¹ - включается в набор по запросу.

² - в случае использования стрипованных пробирок.

4. Комплект реагентов для ПЦР–амплификации кДНК вирусов гриппа В, с детекцией в режиме реального времени (Influenza B virus), включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 48 пробирок (по 20 мкл) или 6 стрипов по 8 пробирок (по 20 мкл);
- Таq-полимеразу – 1 пробирка (25 мкл);
- ПЦР-буфер – 1 пробирка (500 мкл);
- минеральное масло – 1 пробирка (1,0 мл);
- положительный контрольный образец – 1 пробирка (75 мкл).
- Крышки для стрипов² – 6 шт.

5. Комплект реагентов для ПЦР–амплификации кДНК вирусов гриппа А и В, с детекцией в режиме реального времени (Influenza A&B virus), включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 48 пробирок (по 20 мкл) или 6 стрипов по 8 пробирок (по 20 мкл);
- Таq-полимеразу – 1 пробирка (25 мкл);
- ПЦР-буфер – 1 пробирка (500 мкл);
- минеральное масло – 1 пробирка (1,0 мл);
- положительный контрольный образец – 1 пробирка (75 мкл).
- Крышки для стрипов³ – 6 шт.

2.2 Количество анализируемых проб

Набор ГриппКомплекс предназначен для одноразового применения и рассчитан на проведение 48 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Обратная транскрипция с последующей полимеразной цепной реакцией с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса обратной транскрипции РНК и последующей амплификации кДНК, заключающейся в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Таq-полимеразой.

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

³ - в случае использования стрипованных пробирок.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который 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, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции. В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации искомой кДНК и внутреннего контрольного образца, включены флуоресцентные метки Fam, Rox и Hex соответственно, что позволяет отдельно регистрировать результаты амплификации кДНК вирусов гриппа и внутреннего контрольного образца (таблица 1).

Таблица 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Комплект реагентов	Канал детекции		
	Fam	Hex	Rox
Influenza A virus	Вирус гриппа А	ВК	-
Influenza B virus	Вирус гриппа В	ВК	-
Influenza A&B virus	Вирус гриппа А	ВК	Вирус гриппа В

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

Исследование с использованием набора реагентов ГриппКомплекс состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции, ПЦР-амплификация кДНК в режиме реального времени.

Для проведения ПЦР используют амплификаторы детектирующие.

2.4 Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки): 5 часов.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Специфичность анализа

В образцах биологического материала, содержащих РНК выявляемого вируса гриппа, во время проведения амплификации, детектирующий амплификатор должен регистрировать положительные результаты амплификации специфических фрагментов кДНК (экспоненциальный рост кривой флуоресценции по каналам Fam и/или Rox).

В образцах биологического материала, не содержащих РНК выявляемого вируса гриппа, при проведении амплификации, регистрируется положительный результат амплификации внутреннего контроля (экспоненциальный рост кривой флуоресценции по каналу Hex) и отрицательный результат амплификации специфических фрагментов кДНК (отсутствие экспоненциального роста кривой флуоресценции по каналам Fam и Rox).

3.2 Аналитическая чувствительность на 1,0 мл образца:

Не более 500 геном-эквивалентов РНК вирусов гриппа А или В.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие требования безопасности к наборам реагентов для *in vitro* диагностики в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011.

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 санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СП 1.3.2322-08 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением её боксами биологической безопасности.

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

Выделение РНК следует проводить в ламинарных шкафах с включенным ламинарным потоком. Подготовку к ПЦР с использованием набора реагентов следует проводить в ПЦР-боксах.

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

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

Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации (МУ 1.3.2569-09).

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.2322-08.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

Не допускается использовать набор реагентов:

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

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалы биологического происхождения, веществ, 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 ГриппКомплекс требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс;
- амплификатор детектирующий («ДТ-322», «ДТлайт»⁴, «ДТпрайм»⁵ или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология»));
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл с RCF не ниже 16 200 × g (соответствует 13 000 об/мин на центрифуге Heraeus Pico 17);
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 50 °С до 95 °С;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл;
- пробирки пластиковые объёмом 1,5 мл;
- пробирки пластиковые объёмом 0,5 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объём жидкости 0,5–10 мкл, 2,0–20 мкл, 20 – 200 мкл, 100–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- транспортная среда для биопроб и/или физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный;
- комплект для выделения НК из биологического материала (рекомендуется ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология»)).

⁴ – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

⁵ – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

Программное обеспечение для амплификаторов детектирующих «ДТ-322», «ДТлайт», «ДТпрайм» и «ДТ-96»:

- версия ПО не ниже 7.3⁶.
- файлы с параметрами анализа «Influenza_A.ini», «Influenza_B.ini», «InflAB.ini».

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследований

Для исследования используют биологический материал человека (мазки и смывы из полости носа и ротоглотки) и материал от падших и больных животных (мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы).

Взятие, предобработку и хранение материала проводят в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для выделения РНК из биологического материала.

Решение о выборе места взятия материала для исследования принимает врач.

6.2 Общие требования

Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка.

Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса.

6.3 Взятие образцов биологического материала

6.3.1 Взятие образцов биологического материала человека

6.3.1.1 Мазки из полости носа

Мазки берут сухим стерильным одноразовым зондом в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл с 300 мкл стерильного физиологического раствора или транспортной средой для биопроб.

Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Зонд с биоматериалом переносят в пробирку с физиологическим раствором стерильным или транспортной средой для биопроб, вращают зонд в течение 10-15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлекают зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к стенке пробирки выше уровня раствора, отжимают избыток жидкости. Использованный зонд утилизируют, пробирку закрывают и маркируют.

⁶ – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

<https://www.dna-technology.ru/poequip/po-dlya-oborudovaniya>

6.3.1.2 Мазки из ротоглотки

Мазки берут сухим стерильным одноразовым зондом вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки глотки. Зонд помещают в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с физиологическим раствором стерильным или транспортной средой для биопроб, вращают зонд в течение 10–15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлекают зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к стенке пробирки выше уровня раствора, отжимают избыток жидкости. Использованный зонд утилизируют, пробирку закрывают и маркируют.

6.3.1.3 Смывы из ротоглотки

Перед взятием смывов из ротоглотки необходимо предварительное полоскание полости рта водой. После этого проводят тщательное полоскание ротоглотки (в течение 10-15 с) 8,0-10 мл физиологического раствора стерильного. Жидкость собирают через воронку в стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного автоклавирования. Смывы из ротоглотки (300 мкл) переносят в пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл, пробирки закрывают крышками и маркируют.

6.3.1.4 Смывы из полости носа

Взятие материала производят в положении больного сидя с отклоненной назад головой. Для получения смыва из полости носа в оба носовых хода поочередно с помощью зонда или одноразового шприца вводят по 3,0-5,0 мл теплого физиологического раствора стерильного. Промывную жидкость из обоих носовых ходов собирают через воронку в одну стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного автоклавирования. Смывы (300 мкл) переносят в пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл, пробирки закрывают крышками и маркируют.

6.3.2 Взятие образцов биологического материала животных

6.3.2.1 Мазки из трахеи, полости носа, глотки, клоаки

Мазки берут сухим стерильным одноразовым зондом в пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл с 300 мкл стерильного физиологического раствора или транспортной средой для биопроб.

После взятия мазка (из трахеи, полости носа, глотки, клоаки), зонд с биоматериалом переносят в пробирку с физиологическим раствором стерильным или транспортной средой для биопроб, вращают зонд в течение 10-15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлекают зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к стенке пробирки выше уровня раствора, отжимают избыток жидкости. Использованный зонд утилизируют, пробирку закрывают и маркируют.

6.3.2.2 Внутренние органы

Внутренние органы (фрагменты трахеи и легких, селезенка, мозг, печень и др.) помещают в стерильную сухую посуду, которую плотно закрывают крышкой и маркируют.

6.3.2.3 Фекалии

Пробы фекалий (4-5 г) переносят в стерильную сухую посуду, которую плотно закрывают крышкой и маркируют.

6.4 Транспортирование и хранение исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до начала исследования не должно превышать 24 часов.

Транспортировать и хранить образцы до начала исследования при температуре от 2 °С до 8 °С.

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

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Подготовка материала к выделению РНК

7.1.1 Мазки и смывы

7.1.1.1 Пробирку, содержащую анализируемый материал, центрифугируйте при 13 000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

Примечание – Используйте центрифугу для пробирок объемом 1,5 мл с RCF не ниже 16 200 × g (соответствует 13 000 об/мин на центрифуге Heraeus Pico 17).

7.1.1.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

7.1.2 Фекалии

7.1.2.1 Перенесите ~250 мг (мкл) фекалий в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с 1,0 мл физиологического раствора стерильного. Встряхните пробирку на вортексе в течение 5–10 с.

7.1.2.2 Центрифугируйте пробирку при 1000 об/мин в течение 2–3 мин при комнатной температуре.

7.1.2.3 Перенесите 800–1000 мкл надосадочной жидкости в новую пробирку объемом 1,5 мл, центрифугируйте при 13 000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре.

7.1.2.4 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

7.1.3 Внутренние органы животных

7.1.3.1 Поместите ~250 мг исследуемого материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

7.1.3.2 Добавьте 1,0 мл физиологического раствора стерильного. Встряхните пробирку на вортексе в течение 3–5 с, центрифугируйте пробирку на микроцентрифуге-вортексе при 1000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

7.1.3.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

7.2 Выделение РНК из биологического материала

ВНИМАНИЕ! Комплект для выделения РНК из биологического материала не входит в состав набора ГриппКомплекс.

Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов. Рекомендуемый комплект для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала: ПРОБА-НК.

О возможности использования других комплектов реагентов для выделения РНК из биологического материала совместно с комплектами для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации можно узнать у представителя компании.

ВНИМАНИЕ! Независимо от используемого комплекта для выделения одновременно с выделением из биологического материала РНК необходимо провести через все этапы пробоподготовки отрицательный контрольный образец (в его качестве можно использовать физиологический раствор в объёме, указанном в инструкции к комплекту реагентов для выделения РНК).

7.2.1 Выделение РНК с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК

Примечания

1. Перед началом работы необходимо проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе (ПРОБА-НК). В случае выпадения осадка лизирующий раствор прогреть при 65 °С до полного растворения осадка. Затем перемешать лизирующий раствор переворачиванием флакона вверх дном 5-10 раз, избегая пенообразования.
2. На данном этапе используйте только одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
3. Одновременно с выделением РНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец (К-). Для этого в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл внесите 100 мкл отрицательного контрольного образца и выполните п.п. 7.2.1.1 – 7.2.1.14.

7.2.1.1 Добавьте в пробирки с исследуемыми образцами и «К-» по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирок.

7.2.1.2 Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.1.3 Термостатируйте пробирки при 65 °С в течение 15 мин, осадите конденсат центрифугированием при 13 000 об/мин в течение 30 с при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! При выделении РНК вируса гриппа А из тканей внутренних органов животных термостатируйте пробирки при 65 °С в течение 30 мин, осадите конденсат центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3–5 с и перенесите надосадочную жидкость в новую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

7.2.1.4 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

7.2.1.5 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре.

7.2.1.6 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.2.1.7 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.

7.2.1.8 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.

7.2.1.9 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.2.1.10 Добавьте к осадку 300 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.

7.2.1.11 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.

7.2.1.12 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.2.1.13 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при 65 °С в течение 5 мин.

7.2.1.14 Добавьте к осадку 50 мкл буфера для растворения, закройте крышки пробирок и прогрейте пробирки при 65 °С в течение 10 мин.

7.2.1.15 Осадите конденсат центрифугированием при 13 000 об/мин в течение 30 с при комнатной температуре.

Препарат РНК готов для проведения реакции обратной транскрипции.

Полученный препарат РНК рекомендуется сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции.

7.3 Проведение реакции обратной транскрипции

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество новых пластиковых пробирок объёмом 0,5 мл с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).

7.3.2 Разморозьте содержимое пробирок «ОТ-буфер» и «Праймеры ОТ-RANDOM+дНТФ» из комплекта реагентов для обратной транскрипции при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С, затем встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной

температуре.

Примечание - В случае выпадения осадка в буферном растворе «ОТ-буфер» пробирку следует оставить при комнатной температуре до полного растворения осадка, периодически встряхивая на вортексе.

7.3.3 В отдельной пластиковой пробирке приготовьте ОТ-смесь путём смешивания буферного раствора «ОТ-буфер», праймеров «Праймеры ОТ-RANDOM+дНТФ» и обратной транскриптазы:

- 2,0 x (N+1) мкл ОТ-буфера;
- 1,0 x (N+1) мкл «Праймеры ОТ-RANDOM+дНТФ»;
- 0,5 x (N+1) мкл обратной транскриптазы,

где N – количество анализируемых образцов с учётом «К-».

Пример: Необходимо проанализировать 5 образцов и один «К-». Промаркированных пробирок – 6. Нужно приготовить смесь ОТ-буфера, праймеров и обратной транскриптазы для 7 (6+1) пробирок, т.е. 14 мкл ОТ-буфера + 7 мкл праймеров + 3,5 мкл обратной транскриптазы.

ВНИМАНИЕ! Обратную транскриптазу желательно держать вне морозильной камеры как можно меньше.

7.3.4 Встряхните пробирку с ОТ-смесью на вортексе и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

7.3.5 Внесите по 3,5 мкл ОТ-смеси во все промаркированные пробирки.

7.3.6 Внесите в пробирки с ОТ-смесью (кроме пробирки, промаркированной «К-») по 16,5 мкл соответствующего образца РНК (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.3.7 В пробирку, промаркированную «К-», внесите отрицательный контрольный образец, прошедший этап выделения РНК.

Примечание - Во избежание контаминации рекомендуется вносить образцы РНК наконечниками с фильтром.

7.3.8 Пробирки встряхните на вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

7.3.9 Пробирки поместите в термостат и инкубируйте при температуре 40 °С в течение 30 мин, затем при температуре 95 °С в течение 5 мин.

Примечание – Рекомендуется использовать программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, «Гном» (ООО «НПО ДНК-Технология»)).

7.3.10 Осадите конденсат центрифугированием при 13 000 об/мин в течение 30 с при комнатной температуре.

Полученный препарат кДНК готов для проведения ПЦР.

Примечания:

1. Препарат кДНК допускается хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более одного месяца.
2. Для постановки ПЦР образцы кДНК, хранившиеся при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С, необходимо разморозить при комнатной температуре или при температуре от 2 °С до 8 °С.

7.4 Проведение полимеразной цепной реакции

7.4.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок с запечатанной парафином смесью для амплификации: по одной для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

Пример: Необходимо проанализировать 5 образцов. Нужно промаркировать 5 пробирок для исследуемых образцов, одну для «К-» и одну для «К+». Общее количество пробирок – 7.

7.4.2 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и Таq-полимеразой на вортексе и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

7.4.3 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с Таq-полимеразой. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10 x (N+1) мкл ПЦР-буфера;
- 0,5 x (N+1) мкл Таq-полимеразы,

где N – количество анализируемых образцов с учётом «К-» и «К+».

Пример: необходимо проанализировать 5 образцов, один «К-» и один «К+».

Промаркированных пробирок – 7. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и Таq-полимеразы для 8 (7+1) пробирок, т.е. 80 мкл ПЦР-буфера + 4 мкл Таq-полимеразы.

7.4.4 Перемешайте приготовленную смесь ПЦР-буфера с Таq-полимеразой на вортексе и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

Смесь можно хранить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) не более одного часа.

7.4.5 Во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, добавьте по 10 мкл перемешанной смеси ПЦР-буфера с Таq-полимеразой.

7.4.6 В каждую пробирку добавьте по одной капле (около 20 мкл) минерального масла, плотно закройте пробирки.

7.4.7 Для предотвращения контаминации следует перед внесением кДНК открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего. Препараты кДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл соответствующего препарата кДНК (кроме пробирок «К-», «К+»).

- 7.4.8 В пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, внесите 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этапы выделения РНК и обратной транскрипции.
- 7.4.9 В пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, внесите 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.4.10 Все пробирки центрифугируйте при 1000-3000 об/мин (или на микроцентрифуге-вортексе) в течение 3–5 с при комнатной температуре.
- 7.4.11 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.
- 7.4.12 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий набору ini файл: «Influenza_A.ini», «Influenza_B.ini» или «InflAB.ini». При последующих постановках добавляйте в протокол необходимые тесты (Influenza_A, Influenza_B или InflAB), укажите количество и идентификаторы образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе тестов (Influenza_A, Influenza_B или InflAB) в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

Таблица 2 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТ-322», «ДТлайт», «ДТпрайм» и «ДТ-96»

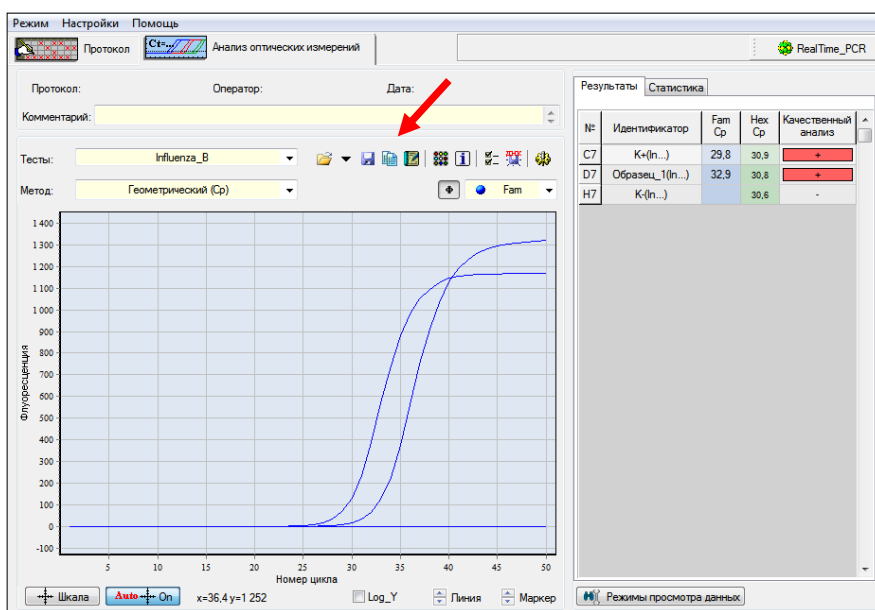
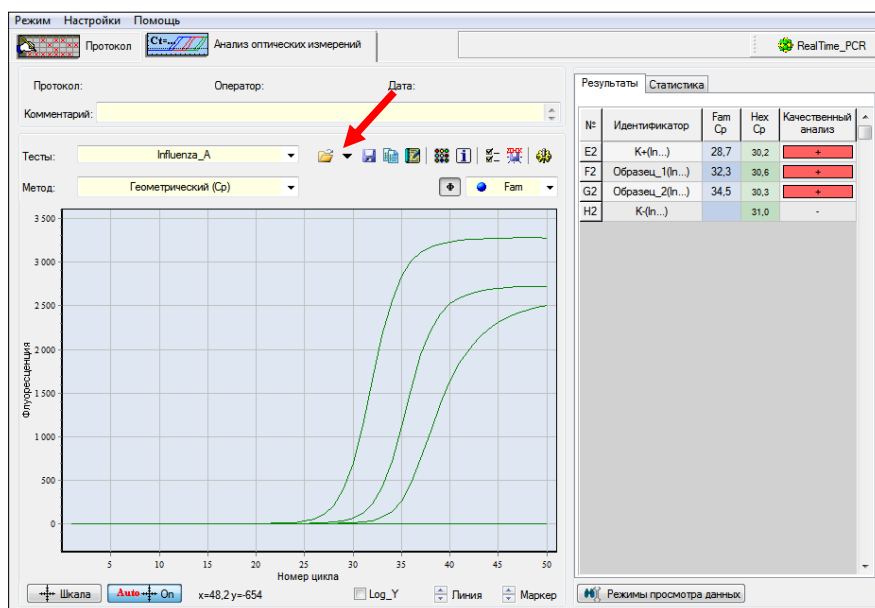
№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	0	30	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15		√	
4	94,0	0	5	1		Цикл
5	10,0	Хранение		Хранение

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

- 8.1** Регистрация результатов амплификации при использовании комплектов реагентов Influenza A virus и Influenza B virus
- 8.1.1 Детекция и учёт результатов осуществляется на детектирующем амплификаторе «ДТ-322», «ДТлайт», «ДТпрайм» или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология») в соответствии с инструкцией к прибору.
- 8.1.2 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола и анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией к прибору. ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации фрагмента генома вируса гриппа и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными метками Fam и Hex соответственно. По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.



Для создания лабораторного отчёта следует выбрать «Отчёт» (кнопка ).



8.2 Регистрация результатов амплификации при использовании комплекта реагентов Influenza A&B virus


8.2.1 Детекция и учёт результатов осуществляется на детектирующем амплификаторе «ДТлайт», «ДТпрайм» или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология») в соответствии с инструкцией к прибору.

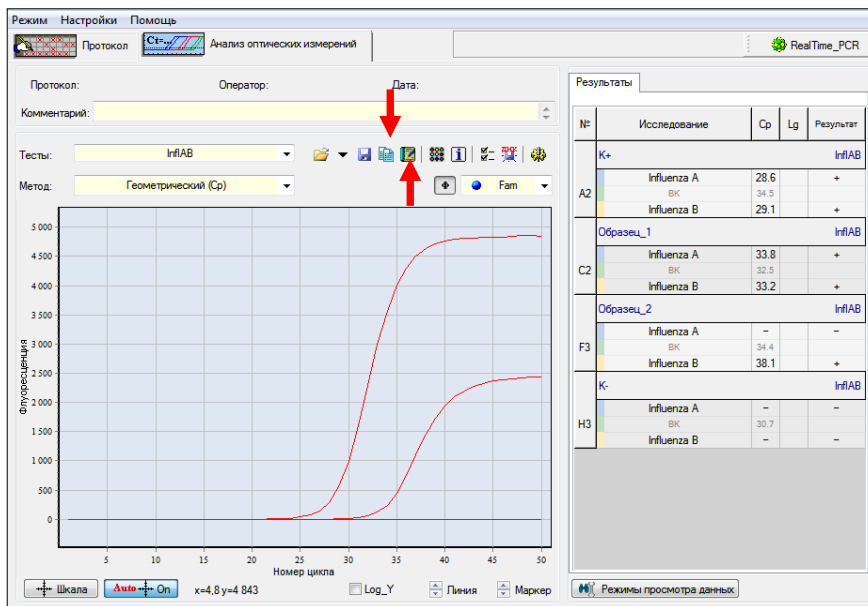
8.2.2 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола и анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией к прибору. ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации фрагмента генома вируса гриппа А, вируса гриппа В и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными метками Fam, Rox и Hex соответственно.

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.



Для создания лабораторного отчёта следует выбрать «Отчёт» (кнопка ).

Для создания специализированного отчёта следует выбрать «Бланк ответа» (кнопка ).



Результат исследования методом полимеразной цепной реакции

Дата
 Номер пробирки
 Ф.И.О. пациента
 Пол
 Возраст
 Организация
 Врач
 Примечание

Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_2

№	Название исследования	Результаты
1	Influenza A	не выявлено
2	Influenza B	ОБНАРУЖЕНО

Исследование выполнил: _____ Дата: _____
 Подпись: _____

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza A virus

9.1.1 Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.1.2 В биологических образцах, содержащих РНК вирусов гриппа А, детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Fam.

9.1.3 В биологических образцах, не содержащих РНК вирусов гриппа А, и в отрицательном контрольном образце детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Hex (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Fam отсутствует (Приложение А).

9.2 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza B virus

9.2.1 Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2.2 В биологических образцах, содержащих РНК вирусов гриппа В, детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Fam.

9.2.3 В биологических образцах, не содержащих РНК вирусов гриппа В, и в отрицательном контрольном образце детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Hex (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Fam отсутствует (Приложение Б).

9.3 Учёт результатов реакции при использовании комплекта реагентов Influenza A&B virus

9.3.1 Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.3.2 В биологических образцах, содержащих РНК вирусов гриппа А и/или В, детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Fam и/или Rox.

9.3.3 В биологических образцах, не содержащих РНК вирусов гриппа А и В, и в отрицательном контрольном образце детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу Hex (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналам Fam и Rox отсутствует (Приложение В).

9.4 Результат оценивается программой как недостоверный (нд) в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для специфического продукта (по каналам Fam, Rox) и для внутреннего контрольного образца (по каналу Hex).

Недостовверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате РНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации препарата кДНК, либо повторное выделение препарата РНК, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

9.5 При отсутствии положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналам Fam, Rox) в положительном контрольном образце, результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

9.6 При получении положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналам Fam, Rox) в отрицательном контрольном образце, результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

10 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения комплектов, входящих в состав набора.

10.1.2 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

10.2.1 Комплекты реагентов для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации, кроме пробирок с запечатанной парафином смесью для амплификации и положительного контрольного образца, следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора. Допускается хранение ПЦР-буфера и минерального масла при температуре от 2 °С до 8 °С. Допускается многократное замораживание-оттаивание ПЦР-буфера и минерального масла.

10.2.2 Пробирки со смесью для амплификации, запечатанной парафином и положительный контрольный образец 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.

10.2.1 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Наборы с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

- 11.1** При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- 11.2** Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе, в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.
- 11.3** Упаковка набора реагентов (коробки, грипперы) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

ВНИМАНИЕ! В случае вскрытия упаковки набора в боксе она относится к отходам класса Б и подлежит утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.











12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 12.1** Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 12.2** Срок годности набора – 9 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для одноразового использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

	Только для in vitro диагностики
	Температурный диапазон
	Количество определений
	Годен до
	Серия набора
	Дата производства
	Содержит инструкцию по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Не допускается воздействие солнечного света

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-95 Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ Р 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения.

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

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.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.

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

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 9001:2015 в области разработка, производство и продажа IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики и другого лабораторного применения и EN ISO 13485:2016 в области разработка, производство и продажа IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «Научно-Производственное Объединение ДНК-Технология», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия.

Адрес производителя: ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Место производства:

Код изготовителя указан на этикетке (см. последнюю цифру в серии набора):

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

Рекламации по вопросам качества набора реагентов ГриппКомплекс следует направлять по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское ш., д.125Ж, корпус 6, этаж 5, комн.14.

тел./факс +7 (495) 640-17-71

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (звонок по России бесплатный),

+7(495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Приложение А

Таблица А1 - Интерпретация результатов ПЦР при использовании комплекта реагентов Influenza A virus

Канал детекции		Результат	Интерпретация результата
Fam	Hex		
Анализируемые образцы			
Ср указан	Ср указан/не указан	+	Обнаружена РНК вируса гриппа А (Influenza А)
Ср не указан	Ср указан	-	РНК вируса гриппа А (Influenza А) не обнаружена
Ср не указан	Ср не указан	нд	Результат недостоверный ⁷
Положительный контрольный образец			
Ср указан	Ср указан/не указан	+	Результат положительный
Отрицательный контрольный образец			
Ср не указан	Ср указан	-	Результат отрицательный

Примечание – Допустимый разброс по Ср для внутреннего контроля в отрицательных образцах ≤ 2 циклам. Для положительных образцов результат амплификации ВК не учитывается.

Приложение Б

Таблица Б1 - Интерпретация результатов ПЦР при использовании комплекта реагентов Influenza B virus

Канал детекции		Результат	Интерпретация результата
Fam	Hex		
Анализируемые образцы			
Ср указан	Ср указан/не указан	+	Обнаружена РНК вируса гриппа В (Influenza В)
Ср не указан	Ср указан	-	РНК вируса гриппа В (Influenza В) не обнаружена
Ср не указан	Ср не указан	нд	Результат недостоверный ⁸
Положительный контрольный образец			
Ср указан	Ср указан/не указан	+	Результат положительный
Отрицательный контрольный образец			
Ср не указан	Ср указан	-	Результат отрицательный

Примечание – Допустимый разброс по Ср для внутреннего контроля в отрицательных образцах ≤ 2 циклам. Для положительных образцов результат амплификации ВК не учитывается.

⁷ - требуется перестановка ПЦР или повторное выделение РНК для данного образца, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

⁸ - требуется перестановка ПЦР или повторное выделение РНК для данного образца, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

Приложение В

Таблица В1 - Интерпретация результатов ПЦР при использовании комплекта реагентов Influenza A&B virus

Канал детекции			Результат	Интерпретация результата
Fam	Hex	Rox		
Анализируемые образцы				
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	РНК возбудителей не обнаружена
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	+	Обнаружена РНК вируса гриппа А (Influenza А)
Ср не указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружена РНК вируса гриппа В (Influenza В)
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Обнаружена РНК вирусов гриппа А, В (Influenza А, В)
Ср не указан	Ср не указан	Ср не указан	нд	Результат недостоверный ⁹
Положительный контрольный образец				
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	+	Результат положительный
Отрицательный контрольный образец				
Ср не указан	Ср указан	Ср не указан	-	Результат отрицательный

⁹ - требуется перестановка ПЦР или повторное выделение РНК для данного образца, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

ДНК-Технология

117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6, этаж 5, комн.14.

Тел./факс +7 (495) 640-17-71

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