



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления патогенных и условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira*
методом ПЦР в режиме реального времени

Leptospira

Декларация о соответствии
№ РОСС RU Д-RU.PA01.B.38877/24 от 25 сентября 2024 года

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	6
2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	7
2.1 Состав набора реагентов.....	7
2.2 Количество анализируемых образцов.....	8
2.3 Принцип метода	8
2.4 Время проведения анализа	9
3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	10
3.1 Аналитическая специфичность	10
3.2 Интерферирующие вещества	10
3.3 Предел обнаружения	11
3.4 Диагностические характеристики.....	12
4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	12
5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	14
6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	17
6.1 Материал для исследования	17
6.2 Общие требования	17
6.3 Взятие материала на исследование.....	17
7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	21
7.1 Выделение ДНК из биологического материала	21
7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S, ручное дозирование	21
7.3 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S, стрипы с использованием дозировющего устройства ДТстрим	24
7.4 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, ручное дозирование	25
7.5 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, с использованием дозирующего устройства ДТстрим	28
7.6 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка A, пробирки.....	30
8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	31
9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	32
10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	33
11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	34
12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	34
13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	34
14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	35
15 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	35

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
ДИ	- доверительный интервал
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ИВ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
К+	- положительный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РМА	- реакция микроагглютинации
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКаза	- рибонуклеазы

ВВЕДЕНИЕ

Лептоспироз (болезнь Вейля-Васильева, водная лихорадка, болотная лихорадка, собачья лихорадка, болезнь свинопасов) – это зоонозная природно-очаговая бактериальная инфекция животных и человека [1; 2]. Клиническими признаками лептоспироза являются желтушное окрашивание слизистых оболочек, кожи (у свиней отмечается только у новорожденных поросят), лихорадка, некрозы слизистых оболочек и кожи, гемоглобинурия, гематурия, анемия, атония желудочно-кишечного тракта, аборт, рождение мертвого или нежизнеспособного потомства. Возможно бессимптомное течение заболевания. Инкубационный период болезни составляет от 2 до 15 суток [6].

Возбудителем лептоспироза являются спирохеты, относящиеся к семейству *Leptospiraceae*, порядку *Spirochaetales*. Это спиралевидные подвижные грамотрицательные факультативно-анаэробные бактерии, спор и капсул не образуют. Являются типичными гидрофилами и при высушивании быстро погибают [1; 6].

На основании современного филогенетического анализа лептоспиры разделяют на 3 группы – патогенные, условно-патогенные (или оппортунистические) и сапрофитные (обитающие в воде открытых водоёмов и во влажной почве, не патогенны для теплокровных животных) [2; 4]. На данный момент род *Leptospira* содержит более 250 патогенных сероваров и более 70 непатогенных, объединяемых в 25 серологических групп, и с каждым годом число сероваров, как и число видов лептоспир, неуклонно растёт [2; 7].

Основными хозяевами и источниками инфекции являются грызуны и насекомоядные (ежи, землеройки). Мочой больных животных загрязняются водоёмы, почва, растительность, пищевые продукты. В результате этого формируются природные очаги инфекции. В хозяйственных (антропоургических) очагах основными хозяевами лептоспир являются домашние животные – свиньи, крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, собаки, а также пушные звери клеточного содержания – лисицы, песцы, нутрии [2; 5].

Основной путь передачи инфекции – водный, меньшее значение имеют контактный и пищевой (кормовой). В организм человека и животных лептоспиры проникают через незначительные повреждения кожи и неповреждённые слизистые оболочки полости рта, носа, глаз, желудочно-кишечного и мочеполового трактов, половой и внутриутробный пути передачи инфекции. Факторами передачи возбудителя являются вода, молоко, продукты убоя, сперма, моча, почва, корма, подстилка, инвентарь и иные материально-технические средства, другие объекты внешней среды, контаминированные возбудителем [5; 6].

Немаловажное значение имеет выявление лептоспир в моче, поскольку к концу первой недели заболевания происходит резкое снижение содержания возбудителя в крови, что связано с выработкой специфических антител в организме хозяина. Происходит персистенция лептоспир в почках, что сопровождается выделением лептоспир с мочой [3].

Лептоспироз является глобально распространённым зоонозом, который может приносить значительный урон продуктивности животноводства, поражая репродуктивные функции домашнего скота [7].

«Золотым стандартом» диагностики лептоспироза является реакция микроагглютинации (РМА), требующая наличия живых культур лептоспир, с чем связана её трудоемкость. Результаты РМА, свидетельствующие о лептоспирозной инфекции, могут быть получены, как правило, на второй неделе заболевания и в ряде случаев диагноз может быть поставлен только на основании повторного исследования сыворотки с интервалом в несколько дней. Антитела к лептоспирам, выявляемые в РМА, могут длительно сохраняться после перенесенного заболевания и вакцинации, что усложняет интерпретацию результата. Применяемые для этих целей классические микробиологические методы исследования обладают рядом недостатков, таких как низкая чувствительность микроскопии и длительность проведения бактериологического исследования, связанная с тем, что лептоспиры относятся к микроорганизмам, медленно растущим на питательных средах. Указанные ограничения лабораторной диагностики лептоспироза могут быть преодолены при использовании молекулярно-биологических методов, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР), характеризующихся более высокой чувствительностью по сравнению с микроскопией и позволяющих быстро (в течение нескольких часов) получить результат анализа [3].

Список литературы

1. Колычев Н.М., Ветеринарная микробиология и микология: учебник / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. – 3-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2022. – 624 с.
2. Литусов Н.В., Лептоспиры. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2012. – 20 с.
3. Ваганова А.Н., Адаптация ПЦР для диагностики лептоспироза и эпидемиологического надзора за лептоспирозной инфекцией / А.Н. Ваганова, Н.А. Стоянова, Н.К. Токаревич // Национальные приоритеты России. – 2011. – №2 (5). – С.162–164.
4. Vincent AT, Schiettekatte S, Goarant C, Neela VK, Bernet E, Thibeaux R, et al. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019.
5. СП 3.1.091-96. ВП 13.3.1310-96. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. 8. Лептоспироз. Санитарные правила. Ветеринарные правила.
6. Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 10 ноября 2023 г. № 847 «Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, лечебных, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лептоспироза».
7. Пряников О.И., Адаптация метода ПЦР в реальном времени для оценки длительности персистенции лептоспир у экспериментально зараженных животных: маг. дис. / Пряников Олег Игоревич; СПбГУ. – Санкт-Петербург, 2016. – 70 с.

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления патогенных и условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira* методом ПЦР в режиме реального времени (*Leptospira*), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выявления ДНК патогенных и условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira* (без дифференциации до вида) в биологическом материале животных (кровь, тканевой материал, моча, спинномозговая жидкость, транссудат) и культурах микроорганизмов, полученных из этого биоматериала, методом ПЦР в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования:

- симптомы лептоспироза, вызванного патогенными и/или условно-патогенными видами бактерий рода *Leptospira*, и эпидемиологически связанные случаи;
- скрининг бессимптомного носительства патогенных и условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira*;
- обнаружение антител к бактериям рода *Leptospira* при проведении плановых серологических исследований восприимчивых животных;
- контакт животных с водой открытых пресных водоёмов.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в диагностической лаборатории: врач диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (лабораторный техник).

1.6 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов для выявления патогенных и условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira* методом ПЦР в режиме реального времени (*Leptospira*) выпускается в стандартной фасовке (маркируется – фасовка S, стрипы; фасовка S, пробирки), в универсальной фасовке для ручного и автоматизированного дозирования (маркируется – фасовка U) и в фасовке для автоматизированного дозирования (маркируется – фасовка A, пробирки).

2.1 Состав набора реагентов

REF R1-V108-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

REF R1-V108-23/9, фасовка S, пробирки			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

REF R1-V108-UA/9, фасовка U			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 пробирка	600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	30 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	600 мкл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

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

REF R1-V108-VA/X, фасовка А, пробирки			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для ПЦР Стрим	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	4 пробирки	по 1,2 мл
Полимераза ТехноТaq МАХ	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки	по 100 мкл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

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

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов в фасовке S рассчитан на проведение 96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Набор реагентов в фасовке U рассчитан на проведение 96 определений при условии постановки не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

Набор реагентов в фасовке А, пробирки рассчитан на проведение 384 определений (одна постановка на 384 образца или две постановки по 192 образца), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

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

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается для фасовки S методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на

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

ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки. «Горячий» старт для фасовок U и A обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94 °С. Это исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

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

В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации ДНК патогенных видов бактерий рода *Leptospira*, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации ДНК условно-патогенных видов бактерий рода *Leptospira*, включена флуоресцентная метка Cy5.

В смесь для амплификации добавлен внутренний контроль (ВК), предназначенный для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Hex.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

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

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
ДНК патогенных видов лептоспир	ВК	–	ДНК условно-патогенных видов лептоспир	–

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

2.4 Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2,5 часов (в зависимости от количества образцов и используемого набора/комплекта реагентов для выделения ДНК).

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала, содержащих ДНК патогенных и/или условно-патогенных видов лептоспир, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительный результат амплификации специфического продукта по каналам детекции Fam и/или Cy5.

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК патогенных и условно-патогенных видов лептоспир, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательный результат амплификации специфического продукта по каналам детекции Fam и Cy5 и положительный результат амплификации внутреннего контрольного образца по каналу детекции Hex.

В ходе НИОКР была проведена проверка специфичности набора реагентов.

При наличии в образцах ДНК заявленных возбудителей инфекций наблюдались специфические положительные результаты амплификации.

Наблюдалось отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждого компонента, входящего в состав набора, по отношению к другой мишени системы. Отсутствовали неспецифические положительные результаты амплификации при наличии в образцах других нуклеиновых кислот, потенциально присутствующих в образце биоматериала.

3.2 Интерферирующие вещества

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

К ингибиторам ПЦР отнесены следующие вещества: гемоглобин, слизь (муцин), билирубин, холестерин, триглицериды, оставшиеся в образце ДНК в результате неполного их удаления в процессе выделения ДНК из образца биоматериала, а также изопропиловый спирт и метилацетат, которые могут присутствовать в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

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

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Концентрация интерферирующих веществ
<i>Эндогенные вещества</i>		
Кровь	Билирубин	684 мкмоль/л
	Холестерин	13 ммоль/л
	Гемоглобин	0,35 мг/мл
	Триглицериды	37 ммоль/л
Тканевой материал	Гемоглобин	0,35 мг/мл
Моча	Билирубин	684 мкмоль/л
	Холестерин	13 ммоль/л
	Гемоглобин	0,35 мг/мл
Спинномозговая жидкость	Холестерин	13 ммоль/л
Транссудат	Гемоглобин	0,35 мг/мл
<i>Экзогенные вещества</i>		
Кровь, тканевой материал, моча, спинномозговая жидкость, транссудат, культуры микроорганизмов	Изопропиловый спирт	10%
	Метилацетат	10%

Примеси, содержащиеся в образце биоматериала, такие как слизь, кровь, элементы тканевого распада и воспаления, местные лекарственные препараты и др. удаляются в процессе выделения НК с использованием наборов реагентов для пробоподготовки. Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия биологического материала.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения установлен путем анализа серийных разведений лабораторных контрольных образцов (ЛКО) и составляет 5 копий ДНК на амплификационную пробирку или $1,0 \times 10^3$ копий/мл препарата ДНК.

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации ДНК при использовании указанных наборов/комплектов реагентов для выделения ДНК и конечного объема элюции (разведения) выделенной ДНК:

№	Выявляемый показатель	Копий на амплификационную пробирку	Копий/мл препарата ДНК	ГЭ/мл препарата ДНК	Копий/мл ДНК (объем элюции, мкл)						
					ПРОБА-НК (50 мкл)	ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-МЧ МАКС (300 мкл)	ПРОБА-ОПТИМА (450 мкл)	ПРОБА-ОПТИМА МАКС (100 мкл) Выделение ДНК из:		ПРОБА-МЧ-РАПИД II (100 мкл)	ПРОБА-ЦИТО ВЕТ (200 мкл)
								100 мкл крови	500 мкл крови		
1	ДНК патогенных видов лептоспир	5	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
2	ДНК условно-патогенных видов лептоспир	5	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$

3.4 Диагностические характеристики

Количество исследований (n) – 300.

Диагностическая чувствительность (95% ДИ) – 100% (95,6 – 100%).

Диагностическая специфичность (95% ДИ) – 100% (96,7 – 100%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с нормативными документами и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением её 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 диагностической лаборатории.

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

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

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

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

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводятся выделение НК 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 нормативными документами.

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР.

При использовании набора реагентов в диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями нормативных документов.

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента			Указание на риски
	Фасовка S	Фасовка U	Фасовка А, пробирки	
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	–	–	–
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ	–	–	–
Минеральное масло	Нет опасных веществ	–	–	–
Смесь для амплификации	–	Нет опасных веществ	–	–
Смесь для ПЦР Стрим	–	–	Нет опасных веществ	–
Полимераза ТехноTaq MAX	–	Нет опасных веществ	Нет опасных веществ	–
ПЦР-буфер	–	Нет опасных веществ	–	–
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%	Является безопасным для конечного пользователя

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

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

Не использовать набор реагентов:

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

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S		Фасовка U, дозирование		Фасовка A
	стрипы	пробирки	ручное	автоматизированное	пробирки
ПЦР-бокс	да	да	да	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени ¹	да	да	да	да ²	да ²
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	нет	нет	нет	нет
холодильник с морозильной камерой	да	да	да	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	да	да	да	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,2 мл	нет	да	да ³	нет	нет
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	нет	нет	нет	нет
дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объем жидкости от 0,5 до 10 мкл, от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да	да	да	нет
наконечники одноразовые с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да	да	да	нет
штатив для дозаторов	да	да	да	да	нет
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	нет	нет	да	да	да
пробирки амплификационные объемом 0,2 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз или микропланшет ПЦР 96 лунок ⁴	нет	нет	да	нет	нет
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да	да	да	да
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения 12М1 или 15М1, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим 12М1 или 15М1	да ⁵	нет	нет	да	нет
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения *М4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим *М4	нет	нет	нет	нет	да
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 200 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	да ⁵	нет	нет	да	да
Устройство для запечатывания планшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия	нет	нет	да ⁶	да	да
центрифуга с адаптером для микропланшетов, с RCF (g) не ниже 100	нет	нет	да ⁶	да	да
полимерная термоплёнка для запечатывания микропланшетов ПЦР	нет	нет	да ⁶	да	да

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S		Фасовка U, дозирование		Фасовка A
	стрипы	пробирки	ручное	автоматизированное	пробирки
микропланшет ПЦР 384 лунки	нет	нет	нет	да	да
транспортная среда (при необходимости), рекомендуется использовать Транспортную среду для биопроб STOP-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640 или транспортную среду, рекомендованную в инструкции по применению используемого набора/комплекта реагентов для выделения ДНК					
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости)					
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала ⁷ , рекомендуются: - Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС по ТУ 9398-035-46482062-2009 в формах комплектации: комплект ПРОБА-НК, комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867, - Набор реагентов для выделения ДНК ПРОБА-МЧ МАКС по ТУ 21.20.23-106-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», РУ № РЗН 2021/14391; - Набор реагентов для выделения ДНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека и культур микроорганизмов (ПРОБА-ОПТИМА)⁸ по ТУ 21.20.23-124-46482062-2021, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17496, - Набор реагентов для выделения ДНК/РНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека (ПРОБА-МЧ-РАПИД II) по ТУ 21.20.23-136-46482062-2023, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2024/23205; - Набор реагентов для выделения ДНК из крови сельскохозяйственных и домашних животных (ПРОБА-ЦИТО ВЕТ) по ТУ 21.10.60-001-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, ДС № РОСС RU Д-RU.С007.В.00279/20.					
Дополнительно для предобработки тканевого материала:					
бокс биологической безопасности II класса					
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз					
дезинфицирующий раствор					
Дополнительно для предобработки спинномозговой жидкости:					
бокс биологической безопасности II класса					
центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, с RCF(g) не ниже 8000					
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз					
дезинфицирующий раствор					
Дополнительно для предобработки культур микроорганизмов:					
бокс биологической безопасности II класса					
центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, с RCF(g) не ниже 12000					
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз					
дезинфицирующий раствор					
Примечания к таблице:					
¹ – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже					
² – только детектирующий амплификатор «ДТпрайм» (модификация ДТпрайм *Х*), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229					
³ – только при использовании пробирок					
⁴ – не используется для детектирующего амплификатора «ДТлайт»					
⁵ – только для автоматизированного дозирования					
⁶ – при использовании микропланшетов					
⁷ – для выделения ДНК патогенных и условно-патогенных лептоспир допускается использование любых наборов реагентов, рекомендованных производителями для выделения ДНК из соответствующего вида биоматериала с целью дальнейшего исследования методом ПЦР в режиме реального времени. Возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК патогенных и условно-патогенных лептоспир определяется видом биологического материала (7.1)					
⁸ – для выделения ДНК из крови только в варианте исполнения ПРОБА-ОПТИМА МАКС					

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

- обеспечивается работа с объёмом реакционной смеси 35 мкл (фасовка S) или 18 мкл (фасовки A, U);
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Cy5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °C;
- скорость нагрева не менее 2 °C/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °C/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °C.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *Х*») ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 (только для набора реагентов в фасовках A, U для автоматизированного дозирования), далее по тексту – «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *Х*»;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228 (только для набора реагентов в фасовке S; в фасовке U для ручного дозирования при использовании пробирок), далее по тексту – «ДТлайт».

По вопросам применения детектирующих амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют кровь, тканевой материал, мочу, спинномозговую жидкость, транссудат и культуры микроорганизмов, полученные из этого биоматериала.

ВНИМАНИЕ! Вид биологического материала для ПЦР-исследования определяет ветеринарный врач на основании знаний о патогенезе болезни, клинической картины, поставленной цели исследования и руководствуясь действующими регламентирующими документами.

6.2 Общие требования

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

Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

На этапах подготовки биоматериала и выделения из него ДНК, за исключением этапа отбора надосаточной жидкости с использованием аспиратора, используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить биологический материал, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют в соответствии с требованиями нормативных документов.

6.3 Взятие материала на исследование

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

6.3.1 Кровь

У лошадей, крупного рогатого скота, овец и коз кровь берут из яремной или хвостовой вены стерильной иглой с соблюдением правил асептики и антисептики, пользуясь отдельной иглой для каждого животного. У свиней кровь берут из уха или из кончика хвоста.

Взятие цельной периферической крови проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов реагентов для выделения НК (7.1).

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.3.2 Тканевой материал

Поместите в стерильный пластиковый контейнер тканевой материал (фрагменты тканей и органов) массой не более 1,0 г.

6.3.3 Моча

Утреннюю порцию мочи собирают до кормления, при естественном мочеиспускании животных в стерильный пластиковый контейнер для взятия, хранения и транспортирования биологических образцов или с помощью шприца-контейнера в объеме не менее 10 мл. У коров и свиноматок допускается брать мочу катетером.

6.3.4 Спинномозговая жидкость, транссудат

Спинномозговую жидкость (ликвор) и транссудат в объеме не менее 1,0 мл отбирают стерильным шприцом или пипеткой методом аспирации в стерильные плотно закрывающиеся пробирки.

6.3.5 Культуры микроорганизмов

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

Подготовьте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5–2,0 мл с 500 мкл стерильного физиологического раствора. Поместите в каждую пробирку одиночную колонию клеток или 100 мкл жидкой среды. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.

6.4 Транспортирование и хранение исследуемого материала

Условия транспортирования и хранения образцов биологического материала определяются инструкциями по применению используемых наборов реагентов для выделения НК (7.1) или используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

6.4.1 Кровь

Образцы крови допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 20 °С до 25 °С – не более 6 часов с момента взятия материала;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 48 часов с момента взятия материала.

ВНИМАНИЕ! Цельную кровь замораживать запрещено!

6.4.2 Тканевой материал

Тканевой материал допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектam реагентов для выделения НК или используемым для транспортирования и хранения образцов транспортным средам

6.4.3 Моча

Нативные и предварительно обработанные образцы мочи допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.4.4 Спинномозговая жидкость

Спинномозговую жидкость допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более трёх месяцев;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.4.5 Транссудат

Транссудат допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более трёх суток;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.4.6 Культуры микроорганизмов

Культуры микроорганизмов с жидких и плотных сред допускается транспортировать и хранить¹:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 20 °С до минус 18 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.5 Подготовка биологического материала для выделения ДНК

6.5.1 Кровь

Подготовка образцов крови (при необходимости) проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

6.5.2 Тканевой материал

- 6.5.2.1 Гомогенизируйте 0,2–0,3 см³ (200–300 мкл) тканевого материала с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков или автоматического гомогенизатора.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектam реагентов для выделения НК или используемым для транспортирования и хранения образцов транспортным средам

- 6.5.2.2 Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл примерно 100 мкл тканевого гомогената.
- 6.5.2.3 Добавьте к гомогенату 900 мкл стерильного физиологического раствора, закройте пробирку.
- 6.5.2.4 Тщательно перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

Образец готов для выделения ДНК.

6.5.3 Моча

Подготовка образцов мочи проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

6.5.4 Спинномозговая жидкость

- 6.5.4.1 Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл, используя наконечник с фильтром, 1,0 мл спинномозговой жидкости.
- 6.5.4.2 Центрифугируйте пробирку с ликвором при RCF(g) 8000 в течение 5 мин. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке осадок и примерно 100 мкл надосадочной жидкости.

Образец готов для выделения ДНК.

6.5.5 Транссудат

Транссудат не требует предварительной подготовки, если иное не предусмотрено инструкцией по применению к набору/комплекту реагентов для выделения НК.

6.5.6 Культуры микроорганизмов с жидких и плотных сред

Центрифугируйте пробирку с образцом при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объём (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора/комплекта реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

Образец готов для выделения ДНК.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Для выделения ДНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-МЧ МАКС, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-ЦИТО ВЕТ, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 2).

Допускается использование любых наборов реагентов, рекомендованных производителями для выделения ДНК из образцов биологического материала животных с целью последующего исследования методом ПЦР в режиме реального времени.

Таблица 2 – Наборы/комплекты реагентов, валидированные для выделения ДНК для дальнейшего исследования с использованием набора реагентов Leptospira

Набор/комплект реагентов	Биоматериал	Минимальное количество элюата, мкл
ПРОБА-НК, РУ № ФСР 2010/08867	Тканевой материал, моча, спинномозговая жидкость, транссудат, культуры микроорганизмов	50
ПРОБА-НК-ПЛЮС, РУ № ФСР 2010/08867	Тканевой материал, моча, спинномозговая жидкость, транссудат, культуры микроорганизмов	300
ПРОБА-МЧ МАКС, РУ № РЗН 2021/14391	Цельная периферическая кровь, моча	300
ПРОБА-ОПТИМА, РУ № РЗН 2022/17496	Цельная периферическая кровь ¹	100
	Тканевой материал, моча, спинномозговая жидкость, культуры микроорганизмов	450
ПРОБА-ЦИТО ВЕТ, ДС № РОСС RU Д-РУ.СС07.В.00279/20	Цельная периферическая кровь	200
ПРОБА-МЧ-РАПИД II, РУ № РЗН 2024/23205	Моча	100

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

7.2 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S, ручное дозирование

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
2. 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!

¹ – только с использованием набора реагентов в варианте исполнения ПРОБА-ОПТИМА МАКС

7.2.1 Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 24 постановки при условии переменного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 4 образца. Для этого нужно промаркировать 4 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 6.

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

7.2.3 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

7.2.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте пробирки/стрипы.

7.2.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед внесением в пробирки с реакционной смесью для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ЦИТО ВЕТ встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед

внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

- 7.2.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К-» и «К+», ДНК не вносится.
- 7.2.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).
- 7.2.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.2.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.10 Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора.
- 7.2.11 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий файл с параметрами теста. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка S)

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

7.3 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка S, стрипы с использованием дозирующего устройства ДТстрим

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.3.1 Промаркируйте по одной стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

Пример:

Необходимо проанализировать 6 образцов. Для этого нужно промаркировать 6 пробирок для неизвестных образцов, одну пробирку для «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество – 1 стрип.

7.3.2 Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.3 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед проведением дозирования для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.
2. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ЦИТО ВЕТ встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! При дозировании компонентов минеральное масло из состава набора реагентов не используется.

- 7.3.4 Установите пробирки с раствором Taq-полимеразы, с препаратами ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом, а также стрипы со смесью для амплификации на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.
- 7.3.5 Закройте стрипы.
- 7.3.6 Центрифугируйте стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.3.7 Установите стрипы в блок детектирующего амплификатора.
- 7.3.8 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий файл с параметрами теста. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.3.7) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

7.4 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, ручное дозирование

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать одноразовые амплификационные пробирки объёмом 0,2 мл или микропланшеты ПЦР 96 лунок¹, герметизируемые термоплёнкой. Не рекомендуется использовать стрипованные пробирки в связи с опасностью постаmplификационной контаминации.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

- 7.4.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых амплификационных пробирок объёмом 0,2 мл или микропланшет 96 лунок для неизвестных образцов, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

Примечание – Рекомендуется постановка не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

Пример:

Необходимо проанализировать 4 образца. Для этого нужно промаркировать 4 пробирки/ зарезервировать 4 лунки микропланшета для неизвестных образцов, одну пробирку/лунку для «К-» и одну пробирку/лунку для «К+». Общее количество пробирок/лунок – 6.

- 7.4.2 Встряхните пробирку со смесью для амплификации на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.4.3 Внесите во все промаркированные пробирки/необходимые лунки микропланшета (включая «К-» и «К+») по 6,0 мкл смеси для амплификации.

¹ – для детектирующего амплификатора «ДТлайт» микропланшеты 96 лунок не используются

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

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

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

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

где N – количество промаркированных пробирок/количество необходимых лунок микропланшета с учётом «К–», «К+».

Пример:

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

7.4.6 Встряхните пробирку с приготовленной смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.4.7 Добавьте во все промаркированные пробирки/необходимые лунки микропланшета со смесью для амплификации по 6,0 мкл смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ. Закройте пробирки.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ в пробирки/лунки со смесью для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить 7.4.8 – 7.4.14.

7.4.8 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед внесением в пробирки/лунки с реакционной смесью для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ЦИТО ВЕТ встряхните пробирки с препаратом ДНК и

отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Закрывайте пробирки плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.4.9 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки/необходимые лунки микропланшета по 6,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки/лунки, промаркированные «К–» и «К+», ДНК не вносится.

7.4.10 Внесите в пробирку/лунку, промаркированную «К–», 6,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

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

7.4.12 В случае использования микропланшетов 96 лунок:

7.4.12.1 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак.

7.4.12.2 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.

7.4.12.3 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.

7.4.13 В случае использования пробирок:

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

7.4.14 Установите все пробирки/микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора и проведите ПЦР (7.4.15).

7.4.15 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий файл с параметрами теста. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.4.14) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовки U, A)

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	5	15		Цикл
	94	0	5			
2	94	5	00	1		Цикл
3	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
5	94	0	5	1		Цикл
6	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

7.5 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка U, с использованием дозирующего устройства ДТстрим (только для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *X*»)

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать микропланшеты ПЦР 384 лунки, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирку со смесью для амплификации!

Примечание – Рекомендуется постановка не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, отрицательный и положительный контрольные образцы).

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

7.5.2 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноTaq MAX на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноTaq MAX необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C

7.5.3 Следуя указаниям ПО дозирующего устройства ДТстрим, приготовьте в отдельной одноразовой пробирке смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq МАХ.

ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием.

7.5.4 Встряхните пробирку с приготовленной смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.5.5 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед проведением дозирования для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-ЦИТО ВЕТ встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с, затем поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.5.6 Установите пробирки со смесью для амплификации, со смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ, с препаратами ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом, а также микропланшет для ПЦР на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.

7.5.7 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.

7.5.8 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.

7.5.9 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.

7.5.10 Установите микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.

7.5.11 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите файл с параметрами теста. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.5.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

7.6 Подготовка и проведение ПЦР. Фасовка А, пробирки, с использованием дозирующего устройства ДТстрим (только для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *Х*»)

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать микропланшеты ПЦР 384 лунки, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации Стрим!

7.6.1 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирок «Смесь для ПЦР Стрим» и «Полимераза ТехноТaq МАХ» и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

Примечание – Для проведения 384 определений одновременно используется четыре пробирки со смесью для ПЦР Стрим и две пробирки с полимеразой ТехноТaq МАХ. Для проведения 192 определений одновременно используется две пробирки со смесью для ПЦР Стрим и одна пробирка с полимеразой ТехноТaq МАХ.

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

7.6.2 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Перед проведением дозирования для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

7.6.3 Установите планшеты с образцами ДНК и отрицательными контрольными образцами на рабочий стол ДТстрим в соответствии с протоколом постановки.

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 2 постановки при условии 190 неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

- 7.6.4 Установите пробирки со смесью для ПЦР Стрим, полимеразой ТехноТaq МАХ и положительным контрольным образцом, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.
- 7.6.5 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.
- 7.6.6 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР полимерной термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.
- 7.6.7 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.
- 7.6.8 Установите микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.
- 7.6.9 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите файл с параметрами теста. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.6.8) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

9.2 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 5 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam, Ср	Hex, Ср	Sy5, Ср	
Неизвестные образцы			
Указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК патогенных видов лептоспир Обнаружена ДНК условно-патогенных видов лептоспир
Указан	Не учитывается	Не указан	Обнаружена ДНК патогенных видов лептоспир
Не указан	Не учитывается	Указан	Обнаружена ДНК условно-патогенных видов лептоспир
Не указан	Указан	Не указан	Не обнаружена ДНК патогенных видов лептоспир Не обнаружена ДНК условно-патогенных видов лептоспир
Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец			
Не указан	Указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец			
Указан	Не учитывается	Указан	Положительный результат Результаты постановки валидны

9.3 Недостовверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение препарата ДНК и постановка ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).

9.4 При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

9.5 При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

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

10.1.2 Фасовка S

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °C до 25 °C не более 5 суток.

10.1.3 Фасовка U

10.1.3.1 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °C до 25 °C не более 5 суток.

10.1.3.2 Допускается транспортирование полимеразы ТехноТaq МАХ в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °C не более 5 суток.

10.1.4 Фасовка A

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °C не более 5 суток.

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

10.2 Хранение

10.2.1 Фасовка S

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2 Фасовка U

10.2.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации следует хранить в защищённом от света месте.

10.2.2.2 Полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °C до минус 18 °C в течение всего срока годности набора реагентов.

10.2.3 Фасовка A

Все компоненты набора реагентов следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °C до минус 18 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для ПЦР Стрим следует хранить в защищённом от света месте.

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

10.3 Указания по эксплуатации

- 10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению.
- 10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ (фасовки U, A), следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - смесь для амплификации, смесь для амплификации, запечатанную парафином, и смесь для ПЦР Стрим следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов;
 - полимеразу ТехноТaq МАХ (фасовки U, A) следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

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

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Температурный диапазон		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Номер по каталогу
	Использовать до		Изготовитель
	Код партии (серии)		Не допускать воздействия солнечного света
	Дата изготовления		Нестерильно

15 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики и другого лабораторного применения и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС», (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

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

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

E-mail: hotline@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru