

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В.Осипова

«11» сентября 2022 г.

Паспорта на МИ

**МИ: «Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021»**



Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2
Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru
ИНН 5406800279 / КПП 540601001. ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №50

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295–2021
РУ
№ серии 05
Комплект № 1

Дата изготовления 2022-09-01
Годен до 2023-09-01

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразных слоев	Соответствует
1.2	Тaq–полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3	Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК,	Соответствует

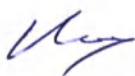
		специфичного для <i>Streptococcus agalactiae</i>	
2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для <i>Streptococcus agalactiae</i>	Соответствует
2.3	Интерферирующие вещества	Билирубин 684 мкмоль/л Холестерин 13 ммоль/л. Гемоглобин 0.35 мг /мл. Триглицериды 37 ммоль/л. Слизь (муцин) 20% ЭДТА До 2.0 мг/мл ¹ ИРС-19 5% Назонекс 2% Пиносол 2% Хлоргексидин биглюконат 5% Индометацин суппозитории 5% Ринофлуимуцил 5% Октенисепт 2% Изопропиловый спирт 10% Метилацетат 10%	Соответствует

Транспортирование: Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021 соответствуют требованиям 21.20.23-148-41390295-2021.

Дата выдачи паспорта 01.09.2022 г.
Начальник ОКК

Е.Н. Шустова



Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий посёлок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2
Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru
ИНН 5406800279 / КПП 540601001. ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №51

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295–2021
РУ
№ серии 06
Комплект № 1

Дата изготовления **2022-09-01**
Годен до **2023-09-01**

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразных слоев	Соответствует
1.2	Тақ-полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3	Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для Streptococcus agalactiae	Соответствует

2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для <i>Streptococcus agalactiae</i>	Соответствует
2.3	Интерферирующие вещества	Билирубин Холестерин Гемоглобин Триглицериды Слизь (муцин) ЭДТА ИРС-19 Назонекс Пиносол Хлоргексидин биглюконат Индометацин суппозитории Ринофлуимуцил Октенисепт Изопропиловый спирт Метилацетат 684 мкмоль/л 13 ммоль/л. 0.35 мг /мл. 37 ммоль/л. 20% До 2.0 мг/мл² 5% 2% 2% 5% 5% 5% 2% 10% 10%	Соответствует

Транспортирование: Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021 соответствуют требованиям 21.20.23-148-41390295-2021.

Дата выдачи паспорта 01.09.2022 г.
Начальник ОКК



Е.Н. Шустова

Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2

Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru

ИНН 5406800279 / КПП 540601001, ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №52

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295–2021

РУ

№ серии 05

Комплект № 2

Дата изготовления 2022-09-01

Годен до 2023-09-01

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

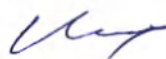
	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразных слоев	Соответствует
1.2	Taq-полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3	Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для Streptococcus agalactiae	Соответствует

2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для <i>Streptococcus agalactiae</i>	Соответствует
2.3	Интерферирующие вещества	Билирубин Холестерин Гемоглобин Триглицериды Слизь (муцин) ЭДТА ИРС-19 Назонекс Пиносол Хлоргексидин биглюконат Индометацин суппозитории Ринофлуимуцил Октенисепт Изопропиловый спирт Метилацетат 684 мкмоль/л 13 ммоль/л. 0.35 мг/мл. 37 ммоль/л. 20% До 2.0 мг/мл³ 5% 2% 2% 5% 5% 5% 2% 10% 10%	Соответствует

Транспортирование: Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021 соответствуют требованиям 21.20.23-148-41390295-2021.

Дата выдачи паспорта 01.09.2022 г.
Начальник ОКК



Е.Н. Шустова



Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2
Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru
ИНН 5406800279 / КПП 540601001, ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №53

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295-2021
РУ
№ серии 06
Комплект № 2

Дата изготовления 2022-09-01
Годен до 2023-09-01

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразных слоев	Соответствует
1.2	Тaq-полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3	Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для Streptococcus agalactiae	Соответствует

2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для <i>Streptococcus agalactiae</i>	Соответствует
2.3	Интерферирующие вещества	Билирубин Холестерин Гемоглобин Триглицериды Слизь (муцин) ЭДТА ИРС-19 Назонекс Пиносол Хлоргексидин биглюконат Индометацин суппозитории Ринофлуимуцил Октенисепт Изопропиловый спирт Метилацетат 684 мкмоль/л 13 ммоль/л. 0.35 мг /мл. 37 ммоль/л. 20% До 2.0 мг/мл⁴ 5% 2% 2% 5% 5% 5% 2% 10% 10%	Соответствует

Транспортирование: Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021 соответствуют требованиям 21.20.23-148-41390295-2021.

Дата выдачи паспорта 01.09.2022 г.
Начальник ОКК



Е.Н. Шустова

Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2
Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru
ИНН 5406800279 / КПП 540601001, ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №54

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295–2021
РУ
№ серии 05
Комплект № 3

Дата изготовления 2022-09-01
Годен до 2023-09-01

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации (600 мкл)	Прозрачная бесцветная или слабо-розового цвета жидкость	Соответствует
1.2	Полимераза ТехноТaq МАХ (30 мкл)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	Соответствует
1.3	ПЦР–буфер (600 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для Streptococcus agalactiae	Соответствует
2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации	Соответствует

Общество с ограниченной ответственностью
«ИМБИАН ЛАБ»
(ООО «ИМБИАН ЛАБ»)

630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово,
ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2
Тел.: 8-800-600-90-77, www.imbian.ru, e – mail: info@imbian.ru
ИНН 5406800279 / КПП 540601001, ОГРН 1195476065047

ПАСПОРТ №55

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-
148-41390295-2021**

ТУ 21.20.23-148-41390295–2021
РУ
№ серии 06
Комплект № 3

Дата изготовления 2022-09-01
Годеи до 2023-09-01

Условия хранения: при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев. Замораживание не допускается.

	Наименование компонента	Характеристика и норма	Выводы
	1	2	3
1. Внешний вид			
1.1	Смесь для амплификации (600 мкл)	Прозрачная бесцветная или слабо-розового цвета жидкость	Соответствует
1.2	Полимераза ТехноТақ МАХ (30 мкл)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	Соответствует
1.3	ПЦР–буфер (600 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4	Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. Технические характеристики			
2.1	Предел обнаружения: 5 копий ДНК на амплификационную пробирку	Положительный результат амплификации фрагмента ДНК, специфичного для Streptococcus agalactiae	Соответствует
2.2	Специфичность	Положительный результат амплификации	Соответствует

		фрагмента ДНК, специфичного для <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i>	
2.3	Интерферирующие вещества	Билирубин 684 мкмоль/л Холестерин 13 ммоль/л. Гемоглобин 0,35 мг/мл. Триглицериды 37 ммоль/л. Слизь (муцин) 20% ЭДТА До 2.0 мг/мл ⁶ ИРС-19 5% Назонекс 2% Пиносол 2% Хлоргексидин биглюконат 5% Индометацин суппозитории 5% Ринофлуимуцил 5% Октенисепт 2% Изопропиловый спирт 10% Метилацетат 10%	Соответствует

Транспортирование: Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021 соответствуют требованиям 21.20.23-148-41390295-2021.

Дата выдачи паспорта 01.09.2022 г.
Начальник ОКК



Е.Н. Шустова

Генеральный директор ООО «Имбиан лаб»
Осипова В.В.



Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ИМБИАН ЛАБ»



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК
Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с
детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР»
по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021**

2022

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

СГВ	- стрептококки группы В
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
ИВ	- интерферирующие вещества
ДНК	- дезоксирибозануклеиновая кислота
ВК	- внутренний контроль
К+	- положительный контрольный образец
К-	- отрицательный контрольный образец

ВВЕДЕНИЕ

Настоящие технические условия распространяются на набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР *in vitro* ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021, далее по тексту – набор реагентов.

Назначение: предназначен для качественного определения ДНК *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в пробах с выделенной ДНК из клинических образцов (кровь, мокрота, моча, соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, фекалии или меконий, биоптаты, ликвор), в бактериальных культурах из этого биоматериала, в смывах с катетеров и эндотрахеальных трубок).

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью выявления *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В).

Функциональное назначение: Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью выявления *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В).

Набор реагентов предназначен для однократного применения.

Популяционные и демографические аспекты: Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому и популяционному признаку.

Противопоказания

Отсутствуют

Показания к применению: скрининг бессимптомного носительства *Streptococcus agalactiae* или наличие признаков инфекционного заболевания, вызванного *Streptococcus agalactiae*.

В случае получения достоверных положительных результатов при использовании данного набора рекомендуется проведение дополнительных исследований для постановки точного диагноза и принятия решения о необходимости лечения.

Предназначенный пользователь набора реагентов:

Сотрудники клиничко-диагностических лабораторий, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку в области ДНК диагностики (врач, лаборант, медицинский работник).

Область применения: клиничко-лабораторная диагностика

Возможные побочные действия

При использовании медицинского изделия по инструкции по применению побочные действия не выявлены.

Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента (телом человека)

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции. Отсутствуют материалы, вступающие в опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

Методы стерилизации изделия.

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

Код вида медицинского изделия: 171180

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ**1.1 Состав набора реагентов**

Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021, комплект № 1 (стрипы)			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	6 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл.
Тақ-полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл.
Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	1,0 мл.
Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл.
Крышки стрипов	6 шт.		
Вкладыш с информацией о контрольном образце	1 шт.		
Инструкция	1 шт.		

Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021, комплект № 2 (пробирки)			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	48 пробирок	по 20 мкл.
Тақ-полимераза (500 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл.
Минеральное масло (1,0 мл)	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	1,0 мл.
Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл.

Вкладыш с информацией о контрольном образце	1 шт.
Инструкция	1 шт.

Набор реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК Streptococcus agalactiae в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021, комплект 3			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации (600 мкл)	Прозрачная бесцветная или слабо-розового цвета жидкость	1 пробирка	600 мкл.
Полимераза ТехноТaq МАХ (30 мкл)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	30 мкл.
ПЦР-буфер (600 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	600 мкл.
Положительный контрольный образец (130 мкл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл.
Вкладыш с информацией о контрольном образце	1 шт.		
Инструкция	1 шт.		

1.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 48 определений (комплекты 1, 2), что соответствует исследованию не более 46 известных образцов, отрицательного контрольного образца и положительного контрольного образца.

Набор реагентов в комплекте 3 рассчитан на проведение в ручном формате 96 определений при условии постановки не менее 5 образцов в одном исследовании (3 неизвестных образца, положительный и отрицательный контрольные образцы) или при использовании дозирующего устройства возможна постановка, предполагающая одновременно 96 определений (94 неизвестных образца, положительный и отрицательный контрольные образцы).

1.3 Принцип метода

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

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

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Для комплектов 1, 2 «горячий» старт обеспечивается

методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только после плавления парафина. Помимо этого, парафин обеспечивает запечатывание реакционной смеси и дополнительную защиту от контаминации ампликонами. «Горячий» старт для комплекта 3 обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94°C в течение 5 минут. Это исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

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

В состав смеси для амплификации включен внутренний контроль (ВК), который предназначен для оценки качества прохождения полимеразной цепной реакции. В состав ДНК- зонда, использующегося для детекции продукта амплификации специфической ДНК, включена флуоресцентная метка FAM. В состав ДНК-зонда, использующегося для детекции продукта амплификации внутреннего контроля, входит флуоресцентный краситель Нех. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

FAM	HEX	ROX	Cy5	Cy5.5
Streptococcus agalactiae	ВК	-	-	-

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка), ПЦР-амплификация ДНК с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов для качественного выявления методом ПЦР in vitro ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021.

Описание целевого анализатора.

Streptococcus agalactiae относится к грамположительным бактериям рода *Streptococcus* spp. группы В, семейства Streptococcaceae, порядка Lactobacillales.

S. agalactiae распространен повсеместно. Природный резервуар бактерии обширен и включает различные виды млекопитающих, птиц и холоднокровных животных.

Стрептококки группы В (СГВ) колонизируют желудочно-кишечный, урогенитальный тракт, ротовую и носовую полость, однако основным резервуаром считается ЖКТ.

У большей части инфицированных взрослых людей колонизация протекает бессимптомно в виде здорового носительства. Однако *S. agalactiae* вызывает тяжело

протекающие заболевания у новорожденных детей и представляет опасность для определенных пациентов других возрастных групп.

СГВ обладают множеством различных факторов патогенности, способствующих выживанию бактерий внутри хозяина, а также развитию инфекционных процессов различной локализации.

СГВ может вызывать такие заболевания как остеомиелит, некротизирующий фасциит, миозит, сепсис, пневмония, артрит, менингит, эндокардит и инфекции урогенитального тракта, при этом уровень заболеваемости и смертности растет с увеличением возраста, а также при наличии сердечно-сосудистых заболеваний, снижении иммунитета, онкологических заболеваний.

Однако, особое внимание *S. agalactiae* привлекает к себе в связи с резким подъемом заболеваемости новорожденных детей инфекциями, вызванными этим микроорганизмом. До настоящего времени *S. agalactiae* занимает одно из ведущих мест в структуре возбудителей перинатальных инфекций.

В подавляющем большинстве случаев новорожденные инфицируются СГВ во время родов от матери, причем чаще это происходит при вагинальном родоразрешении. Риск заболевания доношенного ребенка составляет 1-2%, недоношенного - 15-20%, а при сроке гестации менее 28 недель - практически 100%. СГВ вызывает ранние неонатальные инфекции, такие как сепсис, менингит, пневмония, остеомиелит, артрит и пиелонефрит, частота которых в разных странах колеблется от 0,2 до 5 и более на 1000 живорожденных детей.

В акушерской практике с СГВ связывают бактериемию, инфекции мочевых путей, хориоамнионит, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременные роды, послеродовой эндометрит и др.

Обследование на носительство стрептококка группы В и последующая терапия во время беременности помогает выявить колонизацию *S. agalactiae* родовых путей женщины и уменьшить количество рождения детей с признаками внутриутробной инфекции [5].

Оптимальным решением для реализации скрининговых мероприятий и ранней диагностики СГВ-инфекции является метод ПЦР в реальном времени, который характеризуется чувствительностью, специфичностью и высокой скоростью получения результатов исследования.

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Специфичность анализа

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

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

При исследовании влияния перекрестно-реактивных веществ показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при исследовании в высокой концентрации ДНК близкородственных микроорганизмов или микроорганизмов (в концентрации 10^5 - 10^6 КОЕ /мл), потенциально присутствующих в исследуемых образцах: *Streptococcus bovis*, *Streptococcus sanguinis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter* sp p., *Enterococcus* spp. и ДНК человека в концентрации более 750 нг на образец.

Показано отсутствие конкурентной ингибиции при исследовании образцов, содержащих неспецифическую ДНК в высокой концентрации и ДНК *S. Agalactiae* в низкой.

2.2 Интерферирующие вещества

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

К ингибиторам ПЦР, которые могут присутствовать в образце ДНК, отнесены следующие эндогенные и экзогенные интерферирующие вещества: гемоглобин, билирубин, холестерин, триглицериды, слизь (муцин) и лекарственные препараты (ИРС-19, назонекс, пиносол, хлоргексидин биглюконат, индометацин суппозитории, ринофлуимуцил, октенисепт), находящиеся в образце ДНК в результате неполного удаления в ходе выделения ДНК из образца биоматериала, а также изопропиловый спирт и метилацетат, остающиеся в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

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

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце
Эндогенные вещества		
Кровь, фекалии или меконий, моча, соскобы из желудочно-кишечного тракта	Билирубин	684 мкмоль/л

Кровь, фекалии или меконий, соскобы из желудочно-кишечного тракта, ликвор	Холестерин	13 ммоль/л.
Кровь, мокрота, соскобы из дыхательных путей, смывы с эндотрахеальных трубок, смывы с катетеров, фекалии или меконий, моча, соскобы из желудочно-кишечного тракта, биоптаты	Гемоглобин	0,35 мг /мл.
Кровь, фекалии или меконий, соскобы из желудочно-кишечного тракта	Триглицериды	37 ммоль/л.
Мокрота, соскобы из дыхательных путей, соскобы из урогенитального тракта	Слизь (муцин)	20%
Эндогенные вещества		
Кровь, смывы с катетеров	ЭДТА	До 2,0 мг/мл ¹
Мокрота, соскобы из дыхательных путей	ИРС-19	5%
Мокрота, соскобы из дыхательных путей	Назонекс	2%
Мокрота, соскобы из дыхательных путей	Пиносол	2%
Мокрота, соскобы из дыхательных путей, соскобы из урогенитального тракта	Хлоргексидин биглюконат	5%
Фекалии или меконий	Индометацин суппозитории	5%
Мокрота, соскобы из дыхательных путей	Ринофлуимуцил	5%
Мокрота, соскобы из дыхательных путей, соскобы из урогенитального тракта	Октенисепт	2%
Кровь, мокрота, соскобы из дыхательных путей, смывы с эндотрахеальных трубок, смывы с катетеров, фекалии или меконий, моча, соскобы из желудочно-кишечного тракта, биоптаты, ликвор, бактериальные культуры	Изопропиловый спирт	10%
Кровь, мокрота, соскобы из дыхательных путей, смывы с эндотрахеальных трубок, смывы с катетеров, фекалии или меконий, моча, соскобы из желудочно-кишечного тракта, биоптаты, ликвор, бактериальные культуры	Метилацетат	10%

При добавлении гепарина в образцы биоматериала (кровь и смывы с катетеров) ингибирование ПЦР наблюдалось при минимально исследованной концентрации интерферента равной 110 МЕ/мл.

2.3 Предел обнаружения:

¹ Согласно ГОСТ Р 53079.4-2008 (Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа) калия ЭДТА используют в концентрации от 1,2 до 2,0 мг/мл.

Предел обнаружения составляет 5 копий ДНК на амплификационную пробирку с вероятностью ложного утверждения об отсутствии компонента (концентрация искомого анализата (ДНК *S. agalactiae*)) равной 5 % (заданная достоверность 95 %). Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений лабораторного контрольного образца (ЛКО).

Предел обнаружения в исследуемом образце зависит от используемого набора реагентов для выделения ДНК (производитель рекомендует использовать

«Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008 в составе: реактив «ПРОБА-РАПИД» -100 пробирок по 500 мкл», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2008/02939 от 15.06.2015);

«Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в следующих формах комплектации: ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2010/08696 от 25.10.2016), в форме комплектации: ПРОБА-ГС;

«Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ) по ТУ 9398-088-46482062-2016», производства ООО «НПО ДНК-Технология, Россия (РУ № РЗН 2017/5753 от 23.06.2020), в форме комплектации: ПРОБА-МЧ-РАПИД;

«Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в двух формах комплектации: комплект ПРОБА-НК и комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК Технологии», Россия (РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016), комплектация ПРОБА-НК)и конечного объёма элюции (разведения) выделенной ДНК, например, соскобы из влагалища, в 500 мкл. транспортной среды,:

Комплекты реагентов для выделения ДНК / объём элюции			
ПРОБА-НК/ 50	ПРО БА-ГС / 100	ПРОБА-МЧ-РАПИД / 300	ПРОБА-РАПИД / 500
50 копий/образец	100 копий/образец	300 копий/образец	500 копий/образец

2.4 Диагностические характеристики

Диагностическая чувствительность (95% ДИ)	100% (96,6-100)
Диагностическая специфичность (95% ДИ)	100% (98,6-100)

Вид биоматериала	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)
Кровь	100% (95% ДИ: 47,29-100,00%)	100% (95% ДИ: 92,95-100,00%)
Мокрота	100% (95% ДИ: 54,93-100,00%)	100% (95% ДИ: 92,78-100,00%)
Соскобы из дыхательных путей	100% (95% ДИ: 85,41-100,00%)	100% (95% ДИ: 90,79-100,00%)
Смывы с эндотрахеальных трубок	100% (95% ДИ: 60,70-100,00%)	100% (95% ДИ: 90,19-100,00%)
Смывы с катетеров	100% (95% ДИ: 65,18-	100% (95% ДИ: 65,18-

	100,00%)	100,00%)
Фекалии или меконий	100% (95% ДИ: 60,70-100,00%)	100% (95% ДИ: 90,19-100,00%)
Бактериальные культуры	100% (95% ДИ: 82,93-100,00%)	100% (95% ДИ: 90,19-100,00%)
Моча	100% (95% ДИ: 22,36-100,00%)	100% (95% ДИ: 47,29-100,00%)
Соскобы из желудочно-кишечного тракта	100% (95% ДИ: 79,42-100,00%)	100% (95% ДИ: 91,06-100,00%)
Соскобы из уrogenитального тракта	100% (95% ДИ: 68,77-100,00%)	100% (95% ДИ: 92,22-100,00%)
Биоптаты*	100% (95% ДИ: 74,11-100,00%)	100% (95% ДИ: 54,93-100,00%)
Ликвор*	100% (95% ДИ: 74,11-100,00%)	100% (95% ДИ: 54,93-100,00%)
Примечания:	* - синтетические образцы.	

2.5 Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость

Оценка внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости набора реагентов проведена путём сравнения результатов, полученных при исследовании одних и тех же 26 образцов биоматериала. Полученный результат свидетельствовал о 100% (95% доверительный интервал 89,12 - 100%) внутри- и межсерийной воспроизводимости

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения: 2б (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 № 4н).

Общие требования безопасности к наборам реагентов для диагностики *in vitro*: К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории.

3.2 При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

3.3 Использовать только новые наконечники и пробирки.

3.4 Подготовку и проведение контроля качества набора реагентов следует проводить в ПЦР-боксах.

3.5 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.

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

3.7 Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

3.8 Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.

3.9 Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится

выделение нуклеиновых кислот и постановка ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение 30 минут.

3.10 Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации.

3.11 Входящий в состав набора положительный контрольный образец, содержит натрия азид в концентрации менее 0,1% что является безопасным для конечного пользователя и не требует соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

3.12 При использовании набора реагентов в клинично-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684 и МУ 1.3.2569.

3.13 Не допускается использовать набор реагентов:

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

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Вариант исполнения	
	ПЦР с детекцией в режиме реального времени	
	Комплекты 1, 2	Комплект 3
Смесь для амплификации, запечатанная парафином (по 20 мкл) (комплекты 1 и 2)	Нет опасных веществ	-
Тaq-полимераза (500 мкл) (комплекты 1 и 2)	Нет опасных веществ	-
Минеральное масло (1,0 мл) (комплекты 1 и 2)	Нет опасных веществ	-
Смесь для амплификации (600 мкл) (комплект 3)	-	Нет опасных веществ
Полимераза ТехноТaq МАХ (30 мкл) (комплект 3)	-	Нет опасных веществ
ПЦР-буфер (600 мкл) (комплект 3)	-	Нет опасных веществ
Положительный контрольный образец (130 мкл)	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%

В состав набора реагентов входят реагенты, которые содержат азид натрия – консервант, в концентрации менее 0,1 %, что является безопасным для конечного пользователя.

При использовании по назначению и соблюдению мер предосторожности, контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц, аллергическая реакция. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Не допускается использовать набор реагентов:

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

– по истечению срока годности.

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

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Комплекты 1, 2		Комплект 3	
	стрипы	пробирки	ручной	автоамтизир ованный
ПЦР-бокс	да	да	да	да
амплификатор детектирующий DTprime» (ООО «ДНК-Технология», Россия, ФСР 2011/10229)	да	да	да	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да	да
ротатор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл.	да	нет	нет	нет
холодильник или холодильная камера	да	да	да	да
Морозильная камера	нет	нет	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл. и для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл.	да	да	да	да
дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объем жидкости от 0,5 до 10 мкл., от 2,0 до 20 мкл., от 20 до 200 мкл., от 200 до 1000 мкл.	да	да	да	нет
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 10 мкл.	нет	нет	да	нет
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 20 мкл.	да	да	да	нет
одноразовые наконечники для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНК.аз объемом 200 мкл. 1000 мкл.	да	да	да	нет
пробирки объемом 0,5 мл.	нет	нет	да	нет
пробирки амплификационные объемом 0,2 мл.	нет	нет	да	нет
одноразовые перчатки медицинские без талька текстурированные	да	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да	да	да
Дезинфицирующее средство	да	да	да	да
наконечники GEB (Тесал style) AF2000T-H-NS	нет	нет	нет	да
устройство для запечатывания планшет ДТпак	нет	нет	нет	да

центрифуга для микропланшет ПЦР	нет	нет	нет	да
полимерная термопленка для запечатывания микропланшет ППР	нет	нет	нет	да
микропланшет ПЦР	нет	нет	нет	да

Для предобработки материала для исследования и выделения ДНК:

- бокс биологической безопасности II класса;
- термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) или аналогичный;
- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл. с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз или пробирки объемом 1,5 мл. с защелкивающимися крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, например, Eppendorf Safe-Lock Tubes;
- электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей (при необходимости удаления надосадочной жидкости);
- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора (при необходимости удаления надосадочной жидкости);
- центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл., с RCF не ниже 16000 x g; микроцентрифуга-вортекс;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл.;
- физиологический раствор (если необходимо) для подготовки отрицательного контрольного образца;
- вода деионизованная (при необходимости);
- транспортная среда (применяется согласно используемому образцу биоматериала и типов его забора);
- набор/комплект реагентов для выделения ДНК из биологического материала (рекомендуются:

«Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008 в составе: реактив «ПРОБА-РАПИД» -100 пробирок по 500 мкл», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2008/02939 от 15.06.2015);

«Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в следующих формах комплектации: ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2010/08696 от 25.10.2016), в форме комплектации: ПРОБА-ГС;

«Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ) по ТУ 9398-088-46482062-2016», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № РЗН 2017/5753 от 23.06.2020), в форме комплектации: ПРОБА-МЧ-РАПИД;

«Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в двух формах комплектации: комплект ПРОБА-НК и комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК Технологии», Россия (РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016), комплектация ПРОБА-НК.)

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

5.1 Материал для исследования

Для исследования используют кровь, мокроту, мочу, соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, фекалии или меконий, биоптаты, ликвор, бактериальные культуры из этого биоматериала, смывы с катетеров и эндотрахеальных

трубок.

5.2 Общие требования

Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала человека необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании собранного анамнеза и клинической картины заболевания.

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

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

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

5.3 Взятие материала на исследование

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

5.3.1. Периферическая кровь

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. Для перемешивания крови с антикоагулянтом, после взятия материала, необходимо перевернуть пробирку 2-3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

5.3.2 Ликвор

Взятие спинномозговой жидкости (ликвора) осуществляется одноразовыми иглами в одноразовые пустые пробирки объёмом 1,5 мл. в количестве не менее 500 мкл. согласно установленной процедуре. Пробирки следует плотно закрыть крышкой и промаркировать.

5.3.3 Мокрота

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

После сбора материала флакон плотно закрывают и маркируют.

5.3.4 Моча

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве не меньше 20 -

30 мл. Отбор мочи проводят в специальную сухую стерильную ёмкость объёмом до 60 мл., снабженную герметично заворачивающейся крышкой.

После сбора мочи контейнер плотно закрывают и маркируют.

5.3.5 Соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта

Взятие материала осуществляется с помощью специальных стерильных одноразовых инструментов – зондов, цитощёток или тампонов, в зависимости от источника клинического материала согласно установленной процедуре.

После взятия биологического материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (рекомендуем использовать ту транспортную среду, которая была рекомендована производителем зонда, цитощёток или тампонов), и тщательно прополощите его в течение 10- 15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлеките зонд из раствора, прижимая его к стенке пробирки, отожмите избыток жидкости, удалите зонд и выбросьте. Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте.

Примечание - Перед получением соскоба эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала, свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном.

5.3.6 Фекалии или меконий

Для анализа используют пробы фекалий или мекония массой (объёмом) примерно 1-3 г (1- 3 мл.). Пробу переносят отдельным наконечником с фильтром или одноразовыми лопатками в специальный стерильный сухой флакон в количестве 1 г (примерно).

После сбора фекалий флакон плотно закрывают и маркируют.

5.3.7 Биоптаты

Поместите биоптаты тканей в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл. с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

5.3.8 Смывы с фрагментов венозного катетера

Отрежьте стерильными ножницами 5-10 мм кончика катетера, поместите его в чистую пустую пробирку типа Эппендорф объёмом 1,5 мл.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку. Смывы с венозного катетера получают в лаборатории в ходе обработки материала.

5.3.9 Смывы с эндотрахеальных трубок

Взятие материала производится в пустые одноразовые плотно заворачивающиеся пробирки объёмом 50 мл. После взятия материала пробирку плотно закрывают и маркируют.

5.3.10 Бактериальные культуры

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

Поместите одиночную колонию клеток или 100 мкл. жидкой среды в пластиковую пробирку объёмом 1,5-2,0 мл., в которую предварительно внесено 500 мкл. физиологического раствора стерильного.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

5.4 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

5.4.1 Кровь, ликвор

Образцы крови допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 20 °С до 25 °С - не более 2 часов;
 - при температуре от 2 °С до 8 °С - не более 6 часов с момента взятия материала.
- ВНИМАНИЕ!** Цельную кровь нельзя замораживать.

5.4.2 Мокрота

Образцы мокроты допускается транспортировать и хранить:

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

5.4.3 Нативные и предварительно обработанные образцы мочи:

Нативные и предварительно обработанные образцы мочи допускается транспортировать и хранить:

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

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

5.4.4 Образцы нативных фекалий или мекония

Образцы нативных фекалий или мекония допускается транспортировать и хранить:

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

5.4.5 Фрагменты венозных катетеров, смывы с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры, биоптаты

Фрагменты венозных катетеров, смывы с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры, биоптаты допускается транспортировать и хранить:

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

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала

5.5 Подготовка биологического материала человека для исследования.

ВНИМАНИЕ! Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса центрифугирования (Приложение А). Для определения соответствия центрифуги заданным параметрам центрифугирования обратитесь к руководству по эксплуатации.

ВНИМАНИЕ! Рекомендуемые наборы для выделения ДНК в соответствии с выбранным видом биологического материала

Название медицинского изделия, производитель, страна, регистрационное удостоверение	Вид биоматериала
Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-РАПИД) по ТУ 9398-015-46482062-2008, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия РУ № ФСР 2008/02939 от 15.06.2015	Моча, соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, ликвор
Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037- 46482062-2009 в следующих формах комплектации: ПРОБА- ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» в форме комплектации: ПРОБА-ГС, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия РУ № ФСР 2010/08696 от 25.10.2016	Мокрота, биоптаты
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБАМИ) по ТУ 9398-088-46482062-2016 в следующей комплектации: - ПРОБА-МЧ-НК; - ПРОБА-МЧ- РАПИД», производства ООО «НПО ДНК-Технология, Россия, в форме комплектации: ПРОБА-МЧ-РАПИД РУ № РЗН 2017/5753 от 23.06.2020	Кровь (периферическая). Бактериальные культуры
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062- 2009, комплектация ПРОБА-НК, ООО «НПО ДНК Технологии», Россия РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016	Фекалии (и/или меконий), смывы с катетеров и эндотрахеальных трубок

5.5.1 Кровь

Подготовка образцов крови для исследования проводится согласно инструкции к используемому комплекту /набору реагентов для выделения ДНК (см. 7.1).

5.5.2 Мокрота

5.5.2.1 Способ № 1

1. Перенесите в стерильную посуду примерно 500 мкл. биологического материала и плотно закройте крышкой.
2. Добавьте к пробе мокроты равный объем 10 % трехзамещенного фосфорнокислого натрия $x12H_2O$, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.
3. Инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 18-24 часов, затем нейтрализуйте 1 М HCl до pH 6,8-7,4.
4. Центрифугируйте при 900 x g в течение 20 мин.
5. Слейте надосадочную жидкость в ёмкость с 5 % раствором хлорамина для обеззараживания.
6. Добавьте к осадку 500 мкл. дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

7. Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.2.1 Способ № 2

1. Добавьте в контейнер с образцом муколизин в соотношении 5:1 (5 частей муколизина к одной части мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.
2. Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое и инкубируйте 20-30 мин при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C), каждые 2- 3 мин встряхивая контейнер.

5.5.3 Моча

- 5.5.3.1 Перенесите в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 1,0 мл мочи.
- 5.5.3.1 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
- 5.5.3.2 Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.
- 5.5.3.3 Добавьте к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.
- 5.5.3.4 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
- 5.5.3.5 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.4 Соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, бактериальные культуры с жидких и плотных сред

- 5.5.4.1 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
- 5.5.4.1 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.5 Фекалии или меконий - приготовление суспензии.

- 5.5.5.1 Перенесите в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с 1,0 мл физиологического раствора стерильного примерно 0,1-0,2 г (мл) фекалий.
- 5.5.5.1 Тщательно ресуспендируйте содержимое пробирки на вортексе в течение 5-10с.
- 5.5.5.2 Дальнейшая обработка суспензии проводится в соответствии с инструкцией к используемому набору (комплекту) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.6 Биоптаты

- 5.5.6.1 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
- 5.5.6.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок+ жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.7 Смывы с эндотрахеальных трубок

- 5.5.7.1 Перенесите в пробирку объемом 1,5 мл с помощью автоматического дозатора, используя наконечник с фильтром, 1,0 мл материала.
- 5.5.7.2 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
- 5.5.7.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.8 Ликвор

5.5.8.1 Перенесите в пробирку объемом 1,5 мл. с помощью автоматического дозатора, используя наконечник с фильтром, 500 мкл. материала.

5.5.8.2 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

5.5.8.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

5.5.9 Фрагменты венозных катетеров (только при использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-НК производства ООО «НПО ДНК Технология», Россия РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016))

5.5.9.1 Для получения смывов с фрагментов венозных катетеров внесите в пробирку с фрагментом катетера 100 мкл. дистиллированной воды или 100 мкл. физиологического раствора стерильного.

5.5.9.2 Встряхните пробирку с фрагментом катетера в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

5.5.9.3 Внесите в пробирку 300 мкл лизирующего раствора из комплекта реагентов ПРОБА-НК.

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

5.5.9.5 Термостатируйте пробирку при 65 °C в течение 15 мин.

5.5.9.6 Осадите конденсат центрифугированием в течение 1-3 с на микроцентрифуге- вортексе и перенесите надосадочную жидкость в новую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

Дальнейшее выделение ДНК проводится, начиная с этапа добавления раствора для преципитации.

Дальнейшая обработка остальных видов исследуемого материала осуществляется согласно инструкциям к используемым комплектам реагентов для выделения ДНК.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 Выделение ДНК из биологического материала.

Для выделения ДНК рекомендуется использовать комплекты/наборы реагентов, имеющие регистрационные удостоверения медицинского изделия и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, комплект реагентов ПРОБА-НК, производства ООО «НПО ДНК Технология», Россия РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016. Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту/набору реагентов.

ВНИМАНИЕ! Выделение ДНК из смывов с фрагментов венозных катетеров рекомендуется проводить с помощью комплекта реагентов ПРОБА-НК производства ООО «НПО ДНК Технология», Россия РУ № ФСР 2010/08867 от 13.10.2016 (см. 6.5.9).

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

6.2 Подготовка и проведение ПЦР

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

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Комплект 1, стрипы», строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

6.2.1. Комплекты 1,2: промаркируйте необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином: для исследуемых образцов, для положительного контрольного образца «К+» и отрицательного контрольного образца «К-».

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

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-ГС производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2010/08696 от 25.10.2016) необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при 16000 x g в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД производства ООО «НПО ДНК-Технология, Россия (РУ № РЗН 2017/5753 от 23.06.2020) необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

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

6.2.1.5 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл. выделенного из образца препарата ДНК (кроме пробирок «К-», «К+»). Закройте плотно пробирки.

6.2.1.6 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл. отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см.п.7.1). Закройте плотно пробирку.

6.2.1.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл. положительного контрольного образца. Закройте плотно пробирку.

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

6.2.1.9 Установите все пробирки в блок амплификатора. Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «S.agalactiae.ini». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл. При выборе этих тестов в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице А.1 (Приложение А).

6.2.2 Комплект 3.

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

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

Общее количество пробирок - 6.

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

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

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

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

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

6,0 x (N+1) мкл. ПЦР-буфера,

0,3 x (N+1) мкл. полимеразы ТехноТaq МАХ,

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

Пример: необходимо проанализировать 4 образца, «К-», «К+». Промаркированных пробирок - 6.

Необходимо приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ для 7 (6+1) пробирок, т.е. 42 мкл. ПЦР-буфера + 2,1 мкл. полимеразы ТехноТaq МАХ.

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

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС

необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при 16000 x g в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

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

6.2.2.9 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки 6,0 мкл. выделенного из образца препарата ДНК (кроме пробирок «К-», «К+»). Закройте плотно пробирки.

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

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

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

6.2.2.13 Установите все пробирки в блок амплификатора. Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «S.agalactiae_U». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 18 мкл. При выборе этих тестов в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице Б.1 (Приложение Б).

6.2.3 Комплект 3, с использованием дозирующего устройства (в качестве примера описан ДТстрим)

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

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

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-ГС

необходимо после встряхивания центрифугировать пробирки с препаратом ДНК при 16 000 x g в течение одной минуты для осаждения сорбента. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

2. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-РАПИД необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом ДНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

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

6.2.3.7. Поместите аккуратно, не встряхивая микропланшет ПЦР в подложку герметизирующего устройства ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.

6.2.3.8. Проведите процедуру запечатывания микропланшет ПЦР полимерной термопленкой согласно инструкции к прибору ДТпак.

6.2.3.9. Центрифугируйте микропланшет ПЦР при 500 x g в течение 30 с.

6.2.3.10 Установите микропланшет ПЦР в блок амплификатора. Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «S.agalactiae_U.ini». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест и проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 18 мкл. При выборе этих тестов в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице Б.1 (Приложение Б).

7 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

7.1 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.

7.2 Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.

7.3 После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов. На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла по всем используемым каналам для каждой пробирки в термоблоке.

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

8.1 Учёт и регистрация результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

8.2 После завершения ПЦР программа отображает в таблице в графе «Результат»: «+» или «-». В этом случае выдается заключение по результатам исследования.

8.3 Учёт и интерпретация результатов реакции

8.3.1 Для образцов, для которых получены отрицательные результаты по двум каналам детекции, в графе «Результат» будет указано «нд» (недоверенный результат). В этом случае требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, либо повторное взятие биологического

материала (выполняется последовательно).

8.3.2 Для отрицательного и положительного контрольных образцов должны быть получены результаты, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследования отрицательного и положительного контрольных образцов

Канал детекции		Результат	Интерпретация результата
FAM	HEX		
Положительный контрольный образец			
Значение Ср указано	Значение не учитывается	+	Результат положительный Результаты постановки валидны
Отрицательный контрольный образец			
Значение Ср не указано	Значение Ср указано	-	Результат отрицательный Результаты постановки валидны

8.3.3. Принципы интерпретации результатов исследования приведены в таблице приложения В.

8.3.4. При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

8.3.5. При получении для положительного контрольного образца результатов, отличающихся от указанных в таблице, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

9. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

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

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

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

9.2 Хранение

9.2.1 Компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноTaq MAX, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2°C до 8°C в течение всего срока годности.

9.2.2 Полимеразу ТехноTaq MAX следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18°C до минус 22°C в течение всего срока годности набора реагентов.

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

9.2.4 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, а также с истекшим сроком годности, применению не подлежат.

9.3 Указания по эксплуатации

9.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии

утвержденной инструкции по применению.

9.3.2 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2°C до 8°C в течение всего срока годности набора реагентов;
- смесь для амплификации и смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2°C до 8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора реагентов;
- полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18°C до минус 22°C в течение всего срока годности набора реагентов.

10 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

10.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684 и МУ 1.3.2569.

10.2 Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

11 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

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

12 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

13 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ИМБИАН ЛАБ» (ООО «ИМБИАН ЛАБ»), Россия.

Адрес производителя: 630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2.

Место производства:

ООО «ИМБИАН ЛАБ»: 630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для качественного выявления методом ПЦР *in vitro* ДНК *Streptococcus agalactiae* в образцах ДНК, выделенных из клинических проб, с детекцией в режиме реального времени «СтрептоБ-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-148-41390295-2021, следует обращаться по адресу: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2, тел. 8-800-600-90-77. <https://imbian.ru/>, e-mail: info@imbian.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не допускается воздействие солнечного света
	Серия набора реагентов		Не стерильно
	Дата изготовления		Запрет на повторное использование
	Беречь от влаги		Бережное обращение
	Верх		Хрупкое

Приложение А
ПЦР с детекцией в режиме реального времени, комплекты 1, 2

Таблица А.1 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм».

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

√- режим оптических измерений

Приложение Б
ПЦР с детекцией в режиме реального времени, комплект 3

Таблица Б.1 - Программа амплификации для детектирующего амплификатора «ДТпрайм».

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

√ - режим оптических измерений

Приложение В
(справочное)
Принципы интерпретации результатов исследования

Учет и регистрация проводятся программным обеспечением автоматически. В данном приложении изложены общие принципы интерпретации результатов.

Выбранный флуорофор		Результат	Интерпретация результата
FAM	HEX		
Анализируемые образцы			
Значение Ср указано	Значение не учитывается	+	Обнаружена ДНК Streptococcus agalactiae.
Значение Ср не указано	Значение Ср указано	-	Не обнаружена ДНК Streptococcus agalactiae.
Значение Ср не указано	Значение Ср не указано	нд	Недостовверный результат*

*требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).



Сшито и заверено печатью 30
тридцать) листов

Генеральный директор ООО «Имбиан лаб»
Осипова В.В.

