

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

А.В. Ходяков

16.10.2024



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РНК/ДНК
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В
БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ОТ-ПЦР/ПЦР С
ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» (AMPLITECH ARVI (R))
ПО ТУ 21.20.23-040-19926214-2024

Инструкция по применению версии 16.10.24

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Заместитель генерального директора по
науке ООО «Амплитек»

A blue ink signature of A.S. Kononov.

А.С. Коновалов

16.10.2024

Руководитель научной группы
ООО «Амплитек»

A blue ink signature of G.A. Khayrullina.

Г.А. Хайруллина

16.10.2024

Научный сотрудник отдела разработки и
адаптации продукции ООО «Амплитек»

A blue ink signature of A.A. Filicheva.

А.А. Филичева

16.10.2024

Amplitech ARVI (R)

Набор реагентов для качественного определения РНК/ДНК
возбудителей острых респираторных вирусных инфекций в
биологическом материале человека методом ОТ-ПЦР/ПЦР с
детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech ARVI (R))
по ТУ 21.20.23-040-19926214-2024

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** P029-1  24

Форма 2 **REF** P029-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	4
3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ	4
4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ	4
5 ФОРМЫ ВЫПУСКА	4
6 СОСТАВ.....	5
7 ПРИНЦИП МЕТОДА.....	6
7.1 Характеристика положительного контроля ПК R	7
8 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	7
9 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	8
10 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ.....	9
11 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	10
11.1 Автоматизированная экстракция НК и подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 и автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции	10
11.2 Экстракция НК и ручная подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 или 2. Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции ..	12
12 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	14
13 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ.....	16
14 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	17
14.1 Контроли, используемые в процессе исследования.....	17
14.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации.....	17
14.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований.....	17
15 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	18
15.1 Предел обнаружения	18
15.2 Аналитическая специфичность.....	18
15.3 Прецизионность измерения	19
15.4 Диагностические характеристики	19
16 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	20
16.1 Срок годности.....	20
16.2 Хранение	21
16.3 Транспортирование	21
16.4 Эксплуатация	21
17 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	21
18 БИБЛИОГРАФИЯ.....	21
19 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	22
20 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	23
21 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	23
22 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 16.10.24 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного определения РНК/ДНК возбудителей острых респираторных вирусных инфекций в биологическом материале человека методом ОТ-ПЦР/ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech ARVI (R)) по ТУ 21.20.23-040-19926214-2024» (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech ARVI (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

2. Острые респираторно-вирусные инфекции (ОРВИ) человека – группа заболеваний дыхательных путей человека, вызываемых различными вирусами. ОРВИ – это наиболее распространённые инфекционные заболевания. Клиническая картина, наблюдаемая при заражении ОРВИ, схожа с заболеваниями, вызываемыми вирусами гриппа типов А и В и новой коронавирусной инфекции – SARS-CoV-2. Однако протоколы лечения отличаются. Наиболее точным методом для определения вирусных инфекций является ПЦР в реальном времени. Этот метод обладает высокой чувствительностью, специфичностью и достоверностью результатов. Набор реагентов «Amplitech ARVI (R)» позволяет выявлять, дифференцировать РНК и ДНК указанных микроорганизмов в рамках одной реакции.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного определения нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека (ОРВИ): HRSV (респираторно-синцитиального вируса (Human respiratory syncytial virus)), HMPV (метапневмовируса (Human metapneumovirus)), HPIV 1-4 (вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (Human parainfluenza virus 1-4)), коронавирусов видов HCoV OC43, HCoV 229E, HCoV NL63, HCoV HKU1 (Human coronavirus), HRV (риновирусов групп А, В, С (Human rhinovirus)), HAdV (аденовирусов групп В, С и Е (Human mastadenovirus)) и HBoV (бокавируса (Human bocavirus)) в биологическом материале человека (мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro*. Применение набора не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор предназначен для применения в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с клинической симптоматикой острой респираторно-вирусной инфекции, а также от лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний. Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования вирусами, выявляемыми с помощью набора, и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациента. Отрицательные результаты исследования должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор может применяться в клинко-диагностических лабораториях.

3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказания к применению набора отсутствуют.

4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ

При применении набора по назначению, в соответствии с данной инструкцией, риски и побочные эффекты отсутствуют.

5 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах¹ (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Описание	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Готовые к применению реакционные ПЦР-смеси в виде геля, распапанные в 96-луночный планшет	24
2	Готовые к применению реакционные ПЦР-смеси для разнесения по пробиркам	96

¹ Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

6 СОСТАВ

Состав набора указан в таблицах 2, 3, 4.

Таблица 2

Состав формы 1

Компонент	Номинальный объем, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет с реагентами ARVI (R)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет, заклеенный защитной плёнкой с реагентами в виде геля на дне пробирок
Плёнки для планшета	–	2 шт.	Клейкие плёнки
ВК (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с НК внутреннего контроля)	0,96	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК R (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами НК выявляемых микроорганизмов)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение реагентов в планшете

Ряды пробирок	Реагент	Внешний вид
A, E	Смесь ARVI (R)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок
B, F	Смесь ARVI (R)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок
C, G	Смесь ARVI (R)-3 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок
D, H	Смесь ARVI (R)-4 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок

² В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объем, мл	Кол-во	Внешний вид
Смесь ARVI (RW)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-серого до фиолетового цвета
Смесь ARVI (RW)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-серого до фиолетового цвета
Смесь ARVI (RW)-3 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-серого до фиолетового цвета
Смесь ARVI (RW)-4 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-серого до фиолетового цвета
ВК (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с НК внутреннего контроля)	0,96	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК R (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами НК выявляемых микроорганизмов)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	—	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	—	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	—	1 шт.	В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

7 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом обратной транскрипции (ОТ) РНК и последующей амплификации фрагментов кДНК/ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов амплификации и раздельное выявление мишеней обеспечивается применением в четырёх реакционных смесях для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 5).

³ В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

Каналы детекции мишеней

FAM	R6G ⁴	ROX	Cy5	Cy5.5
Смесь ARVI (R)-1 / Смесь ARVI (RW)-1				
PHK HCoV OC43 (<i>N gene</i>) ⁵	PHK HCoV HKU1 (<i>N gene</i>)	PHK HRSV (<i>N gene</i>)	Экзогенный ВК (искусственно синтезированная последовательность)	—
Смесь ARVI (R)-2 / Смесь ARVI (RW)-2				
PHK HPIV-4 (<i>PP gene</i>)	PHK HPIV-1 (<i>HN gene</i>)	PHK HPIV-3 (<i>HN gene</i>)	Экзогенный ВК (искусственно синтезированная последовательность)	PHK HPIV-2 (<i>HN gene</i>)
Смесь ARVI (R)-3 / Смесь ARVI (RW)-3				
ДНК HBoV (<i>NP1 gene</i>)	PHK HMPV (<i>N gene</i>)	ДНК HAdV (<i>Hexon gene</i>)	Экзогенный ВК (искусственно синтезированная последовательность)	—
Смесь ARVI (R)-4 / Смесь ARVI (RW)-4				
PHK HCoV 229E (<i>N gene</i>)	PHK HCoV NL63 (<i>N gene</i>)	PHK HRV (<i>5' UTR</i>)	Экзогенный ВК (искусственно синтезированная последовательность)	—

7.1 Характеристика положительного контроля ПК R

Концентрация клонированных фрагментов НК всех выявляемых микроорганизмов в ПК R составляет $5 \lg \pm 0,5 \lg$ копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

8 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 6.

Таблица 6

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Необходимое оборудование и материалы в случае	
автоматизированной подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР для формы выпуска 1	ручной подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР для форм выпуска 1 и 2
- автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» («Ампликет», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); - программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСР 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446));	- ПЦР-бокс; - центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); - дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 5 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); - программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСР 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446));

⁴ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

⁵ В скобках указана область амплификации мишени.

• холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.	• штатив для ПЦР-планшетов (при использовании формы 1); • штатив для пробирок объёмом 0,2 мл (при использовании формы 2); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • пробирки для ПЦР объёмом 0,2 мл с оптически прозрачной крышкой, одноразовые, свободные от ДНКа и РНКаз (при использовании формы 2); • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 20 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа и РНКаз; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
---	--

9 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2Б.

Работа с набором должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р ИСО 15190 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21 (раздел IV).

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Утилизировать реагенты и плёнки для планшета (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), внешнюю упаковку набора, эксплуатационную документацию в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Не открывать пробирки с продуктами амплификации в процессе их сбора и утилизации.

- Утилизировать биологический материал, а также расходные материалы и

инструменты, загрязнённые биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Б.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром.

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

10 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;

- требованиями, перечисленными в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие мазков со слизистой оболочки ротоглотки, носоглотки

Взятие мазка провести с помощью сухого медицинского стерильного одноразового зонда (например, ООО «ФармМедПолис РТ», Россия; РУ № РЗН 2021/13989) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; РУ № ФСР 2009/05011) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие и предобработка мокроты

Взятие материала в количестве не менее 1 мл провести в стерильный одноразовый контейнер с широким горлом (диаметром не менее 30 мм) и закручивающейся крышкой.

Предобработка:

Провести разжижение мокроты, используя реагент для предобработки мокроты с целью проведения экстракции нуклеиновых кислот (например, реагент «Муколизин» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или реагент, соответствующий по составу требованиям п. 1.7 Приложения 2 МУ 1.3.2569-09).

Таблица 8

Требования к условиям транспортирования и хранения исследуемого материала

Условия транспортирования и хранения

Мазки со слизистой оболочки носоглотки, ротоглотки

Согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде.

Мокрота (до и после предобработки)

- При температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 суток;
- При температуре минус 20 °С более 2 суток. Допускается однократное замораживание материала.

11 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

11.1 Автоматизированная экстракция НК и подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 и автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

Экстракцию НК из исследуемого материала и контролей, а также внесение образцов экстрагированной НК в пробирки планшета с реакционными ПЦР-смесями провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Ампитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции НК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «НК-100 (R)» (ООО «Ампитек»).

11.1.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ВК, ОК и ПК R и осадить капли на вортексе.

11.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «НК-100 (R)» и внести в него исследуемые образцы и контроли согласно инструкции по его применению.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК R не менее чем в одном повторе.

11.1.3 Установить на рабочий стол автоматической станции картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, а также расходные материалы, входящие в состав набора «НК-100 (R)», согласно руководству по эксплуатации станции.

11.1.4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями ARVI (R)-1, ARVI (R)-2, ARVI (R)-3, ARVI (R)-4, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

Ряд	Вид смеси	Столбцы											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ARVI (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B	ARVI (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	ARVI (R)-3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
D	ARVI (R)-4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	ARVI (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
F	ARVI (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	ARVI (R)-3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
H	ARVI (R)-4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Рисунок 1 – Схема планшета с реагентами

11.1.5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

11.1.6 Установить отрезанные пробирки со Смесями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.

11.1.7 Запустить выполнение следующих протоколов согласно руководству по эксплуатации станции «Amplitech E1»:

а) протокола экстракции НК с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «НК-100 (R)»;

Примечание – В протоколе указать объем элюции 100 мкл. В случае одновременного запуска протоколов экстракции и подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР объем элюции не требует ручного ввода, так как уже включён в протокол подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР.

б) протокола подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «Amplitech ARVI (R)».

ВНИМАНИЕ! Запуск протокола необходимо провести в течение 30 минут после установки всех реагентов на рабочем столе станции.

11.1.8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech ARVI (R)». Элюат, внесённый в пробирки, содержит полученную в процессе экстракции РНК/ДНК.

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку. Пробирки с реакционной смесью с внесенным элюатом не подлежат хранению. Необходимо незамедлительно произвести запуск реакции амплификации.

11.1.9 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 9.

Программа ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции при подготовке к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1»

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	2 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G ⁶ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечание – При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.

11.1.10 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

11.2 Экстракция НК и ручная подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 или 2. Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции

11.2.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ВК, ОК и ПК R и осадить капли на вортексе.

11.2.2 Провести экстракцию НК из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «НК-100 (R)» (ООО «Амплитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объёме 100 мкл.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК R не менее чем в одном повторе.

11.2.3 В зависимости от используемой формы выпуска набора «Amplitech ARVI (R)» провести подготовку к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР в соответствии с таблицей 10.

Таблица 10

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР в зависимости от формы выпуска набора «Amplitech ARVI (R)»

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР при использовании	
формы 1	формы 2
- Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями ARVI (R)-1, ARVI (R)-2, ARVI (R)-3, ARVI (R)-4, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1. - Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку. - Для удобства внесения образцов НК рекомендуется установить отрезанные	- Перемешать содержимое пробирки со Смесями ARVI (RW)-1, ARVI (RW)-2, ARVI (RW)-3, ARVI (RW)-4 и осадить капли на вортексе. - Выставить в штатив для каждого исследуемого и контрольного образца по четыре ПЦР-пробирки в четыре ряда, так как каждый образец НК исследуется в четырех пробирках с разными реакционными Смесями (ARVI (RW)-1, ARVI (RW)-2, ARVI (RW)-3, ARVI (RW)-4). Промаркировать пробирки.

⁶ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР при использовании	
формы 1	формы 2
пробирки в штатив для ПЦР-планшетов. - Внести в подготовленные пробирки по 20 мкл образцов НК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК R). ВНИМАНИЕ! Каждый образец НК вносится в четыре пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (ARVI (R)-1, ARVI (R)-2, ARVI (R)-3, ARVI (R)-4). ВНИМАНИЕ! При внесении НК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь. - Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха. - После внесения образцов НК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech ARVI (R)».	- Внести в первый ряд подготовленных ПЦР-пробирок по 10 мкл Смеси ARVI (RW)-1, во второй ряд по 10 мкл Смеси ARVI (RW)-2, в третий ряд по 10 мкл Смеси ARVI (RW)-3, в четвертый ряд по 10 мкл Смеси ARVI (RW)-4. - Внести в пробирки с реакционными Смесями по 15 мкл образцов НК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК R). ВНИМАНИЕ! Каждый образец НК вносится в четыре пробирки с разными реакционными Смесями (ARVI (RW)-1, ARVI (RW)-2, ARVI (RW)-3, ARVI (RW)-4). ВНИМАНИЕ! При внесении НК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь. - Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха. - После внесения образцов НК закрыть пробирки крышкой.

ВНИМАНИЕ! Пробирки после внесения НК не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку. Пробирки с реакционной смесью с внесенным элюатом не подлежат хранению. Необходимо незамедлительно произвести запуск реакции амплификации.

11.2.4 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 11.

Таблица 11

Программа ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	42
	60	20 с	FAM, R6G ⁷ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечание – При программировании амплификатора указать объем реакции: 25 мкл.

11.2.5 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

⁷ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

12 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- 12.1 Учёт результатов осуществляется с помощью программного обеспечения используемого амплификатора согласно инструкции по его применению. Рекомендуются выставлять пороговую линию на уровне 10 % от разгорания положительного контроля. Кривые флуоресценции, пересекающие пороговую линию, должны иметь сигмообразную форму.
- 12.2 Провести интерпретацию результатов для исследуемых образцов согласно таблице 12.

Таблица 12

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат		Интерпретация
Смесь ARVI (R)-1 / Смесь ARVI (RW)-1		
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного ⁸ . По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	PHK <i>human Coronavirus OC43</i> , <i>human Coronavirus HKU1</i> и <i>human Respiratory Syncytial virus</i> в образце не выявлены.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Coronavirus OC43</i> .
3	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Coronavirus HKU1</i> .
4	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Respiratory Syncytial virus</i> .
5	По двум и более каналам для специфических мишеней (FAM, R6G, ROX) определено значение Ct.	Интерпретация проводится в соответствии с пп. 2–4. Например: В образце выявлены PHK <i>human Coronavirus OC43</i> , <i>human Coronavirus HKU1</i> .
6	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат
Смесь ARVI (R)-2 / Смесь ARVI (RW)-2		
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного ⁸ . По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значения Ct отсутствуют.	PHK <i>human Parainfluenza virus 4</i> , <i>human Parainfluenza virus 1</i> , <i>human Parainfluenza virus 3</i> и <i>human Parainfluenza virus 2</i> в образце не выявлены.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Parainfluenza virus 4</i> .
3	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Parainfluenza virus 1</i> .
4	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Parainfluenza virus 3</i> .
5	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу Cy5.5 определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Parainfluenza virus 2</i> .
6	По двум и более каналам для специфических мишеней (FAM, R6G, ROX, Cy5.5) определено значение Ct.	Интерпретация проводится в соответствии с пп. 2–5. Например: В образце выявлены PHK <i>human Parainfluenza virus 4</i> , <i>human Parainfluenza virus 1</i> .
7	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат

⁸ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

Результат		Интерпретация
Смесь ARVI (R)-3 / Смесь ARVI (RW)-3		
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного ⁹ . По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	PHK <i>human Metapneumovirus</i> , ДНК <i>human Bocavirus</i> и <i>human Adenovirus B, C, E</i> в образце не выявлены.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце выявлена ДНК <i>human Bocavirus</i> .
3	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Metapneumovirus</i> .
4	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце выявлена ДНК <i>human Adenovirus B, C, E</i> .
5	По двум и более каналам для специфических мишеней (FAM, R6G, ROX) определено значение Ct.	Интерпретация проводится в соответствии с пп. 2–4. Например: В образце выявлены PHK <i>human Metapneumovirus</i> , ДНК <i>human Bocavirus</i> .
6	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат
Смесь ARVI (R)-4 / Смесь ARVI (RW)-4		
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного ⁹ . По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	PHK <i>human Coronavirus 229E</i> , <i>human Coronavirus NL63</i> и <i>human Rhinovirus</i> в образце не выявлены.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Coronavirus 229E</i> .
3	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Coronavirus NL63</i> .
4	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце выявлена PHK <i>human Rhinovirus</i> .
5	По двум и более каналам для специфических мишеней (FAM, R6G, ROX) определено значение Ct.	Интерпретация проводится в соответствии с пп. 2–4. Например: В образце выявлены PHK <i>human Coronavirus 229E</i> , <i>human Coronavirus NL63</i> .
6	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей 13.

Таблица 13

Критерии оценки для контролей

Контроль	Норма
Смесь ARVI (R)-1 / ARVI (RW)-1, Смесь ARVI (R)-3 / ARVI (RW)-3, Смесь ARVI (R)-4 / ARVI (RW)-4	
OK	По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют. По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного ⁹ .
ПК R	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5 значение Ct определено не больше граничного.
Смесь ARVI (R)-2 / Смесь ARVI (RW)-2	
OK	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значение Ct отсутствует. По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного.
ПК R	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5 значение Ct определено не больше граничного.

⁹ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

13 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 14.

Таблица 14

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Для ПК на Смеси ARVI (R)-1/ ARVI (RW)-1, Смеси ARVI (R)-3/ ARVI (RW)-3, Смеси ARVI (R)-4/ ARVI (RW)-4 значение Ct по каналу FAM и/или R6G и/или ROX и/или Cy5 отсутствует или определено больше граничного ¹⁰ .	Некорректное проведение экстракции НК и/или ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ПК на Смеси ARVI (R)-2/ ARVI (RW)-2 значение Ct по каналу FAM и/или R6G и/или ROX и/или Cy5 и/или Cy5.5 отсутствует или определено больше граничного ¹⁰ .		
Для ОК на любой из Смесей по каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного ¹⁰ .	Некорректное проведение экстракции НК и/или ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ОК на Смеси ARVI (R)-1/ ARVI (RW)-1, Смеси ARVI (R)-3/ ARVI (RW)-3, Смеси ARVI (R)-4/ ARVI (RW)-4 по каналу FAM и/или R6G и/или ROX определено значение Ct.	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ОК на Смеси ARVI (R)-2/ ARVI (RW)-2 по каналу FAM и/или R6G и/или ROX и/или Cy5.5 определено значение Ct.		
Невалидный результат для исследуемого образца на любой из Смесей (значение Ct по каналу Cy5 отсутствует или определено больше граничного, по каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значения Ct отсутствуют).	Некорректное проведение экстракции НК. Наличие в образце ингибиторов ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции НК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.
Для исследуемого образца/контролей определено значение Ct, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъёма (график представляет собой приблизительно прямую линию).	Некорректный выбор уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Некорректное проведение ОТ-ПЦР/ПЦР.	Проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца или, в случае некорректного вида графика для контроля, амплификацию и детекцию для всех исследуемых образцов и контролей.

¹⁰ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора

14 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

14.1 Контроли, используемые в процессе исследования

Результаты исследования контролей должны соответствовать критериям оценки, указанным в разделе 12.

14.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК R для контроля корректного прохождения исследования.

14.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции НК и оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации используется экзогенный ВК, который добавляется на этапе экстракции НК в каждый исследуемый образец и контроли. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемых вирусов свидетельствует о присутствии ингибиторов ОТ-ПЦР/ПЦР в образце и/или некорректном проведении экстракции НК.

14.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

14.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований

Рекомендуется проводить контроль качества выполнения исследований с использованием панелей контрольных образцов, предназначенных для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению НК выявляемых вирусов, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для качественного определения НК выявляемых вирусов в биологическом материале методом ОТ-ПЦР/ПЦР.

15 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА¹¹

15.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 15.

Таблица 15

Предел обнаружения		
Мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95 %-ый ДИ, копий/мл
РНК HRSV	1000	541-1328
РНК HMPV	1000	602-1540
РНК HPIV-1	1000	599-1538
РНК HPIV-2	1000	550-1381
РНК HPIV-3	1000	600-1507
РНК HPIV-4	1000	602-1584
РНК HCoV OC43	1000	570-1403
РНК HCoV 229E	1000	612-1596
РНК HCoV NL63	1000	612-1529
РНК HCoV HKU1	1000	596-1432
РНК HRV	1000	567-1501
ДНК HAdV	1000	594-1581
ДНК HBoV	1000	589-1538

15.2 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 16, и геномной ДНК человека. НК микроорганизмов исследовалась в концентрации не менее $1 \cdot 10^6$ копий/мл, геномная ДНК человека - в концентрации 1 мкг/мл. По итогам тестирования ложноположительных результатов выявлено не было.

Таблица 16

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
Adenovirus B	<i>Haemophilus influenza</i> (ATCC® 49247™)	Parainfluenza virus 2
Adenovirus C	Human Metapneumovirus (HM-1)	Parainfluenza virus 3
Adenovirus E	Human Rhinovirus A (Рино/1а/Ленинград/78)	Parainfluenza virus 4
Bocavirus	Influenza virus A (A/Anhui/1/2013(H7N9))	Respiratory syncytial virus (hRSV-1)
Coronavirus 229E	Influenza virus B (В/Москва/46/2019)	SARS-CoV-2 (вариант «Омикрон», ГБК1343)
Coronavirus HKU1	<i>Legionella pneumophila</i> (ATCC® 33152)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC® 49619™)
Coronavirus NL63	MERS-CoV	
Coronavirus OC43	Parainfluenza virus типа 1 (Сендай)	

¹¹ Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартных образцов предприятия, содержащих векторы со специфическими последовательностями РНК/ДНК выявляемых микроорганизмов.

15.2.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ПЦР/ОТ-ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР/ОТ-ПЦР, перечислены в таблице 17.

Таблица 17

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокрота	Цельная кровь	Гемоглобин, холестерин, триглицериды	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Муцин	Очищенный белок		5 % v/v	
	Раствор хлоргексидина	Хлоргексидин	Раствор для наружного применения	0,25 %	

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на ПЦР/ОТ-ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech ARVI (R)», отсутствует.

15.3 Прецизионность измерения

Коэффициент вариации повторяемости CV_p пороговых циклов (C_t), характеризующий внутрисерийную повторяемость измерений с использованием набора, не превышает 5 %.

Коэффициент вариации воспроизводимости CV_v пороговых циклов (C_t), характеризующий межсерийную воспроизводимость измерений с использованием набора, не превышает 10 %.

15.4 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 18.

Таблица 18

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Мишень	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
		положит.	отрицат.		
Мазки со слизистой оболочки носоглотки	PHK HRSV	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HMPV	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-1	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-2	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-3	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-4	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV OC43	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV 229E	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV NL63	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV HKU1	98	151	97 – 100	98 – 100

Исследуемый материал	Мишень	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
		положит.	отрицат.		
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	PHK HRV	98	151	97 – 100	98 – 100
	ДНК HAdV	98	151	97 – 100	98 – 100
	ДНК HBoV	98	151	97 – 100	98 – 100
	PHK HRSV	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HMPV	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HPIV-1	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HPIV-2	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HPIV-3	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HPIV-4	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HCoV OC43	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HCoV 229E	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HCoV NL63	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HCoV HKU1	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HRV	98	144	97 – 100	97,9 – 100
Мокрота	ДНК HAdV	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	ДНК HBoV	98	144	97 – 100	97,9 – 100
	PHK HRSV	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HMPV	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-1	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-2	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-3	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HPIV-4	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV OC43	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV 229E	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV NL63	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HCoV HKU1	98	147	97 – 100	98 – 100
	PHK HRV	98	147	97 – 100	98 – 100
	ДНК HAdV	98	147	97 – 100	98 – 100
	ДНК HBoV	98	147	97 – 100	98 – 100

16 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

16.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты ВК, ПК R, ОК, Смесь ARVI (RW)-1, Смесь ARVI (RW)-2, Смесь ARVI (RW)-3, Смесь ARVI (RW)-4 использовать до истечения срока годности набора. Планшет с реагентами ARVI (R) после снятия защитной пленки хранить не более 30 минут.

Не допускается смешивать компоненты наборов разных серий и использовать набор по истечении срока годности.

16.2 Хранение

Форму выпуска 1 в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от 2 °С до 8 °С и относительной влажности воздуха от 25 до 75 % в защищённом от солнечного света месте. Планшет с реагентами ARVI (R) беречь от влаги. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

Форму выпуска 2 в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от минус 20 °С до 8 °С и относительной влажности воздуха от 25 до 75 % в защищённом от солнечного света месте. Реагенты после вскрытия рекомендуется хранить при температуре от 2 °С до 8 °С. Допустимо размораживать и замораживать реагенты не более 4 раз.

16.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах.

16.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Повторное применение использованных для исследования реагентов не допускается.

Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

17 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

Сt	– cycle threshold (пороговый цикл)
в.	– версия
ВК	– внутренний контроль
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	– дезоксирибонуклеаза
кДНК	– комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ОК	– отрицательный контроль
ОТ	– обратная транскрипция
ПК	– положительный контроль
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РНКаза	– рибонуклеаза

18 БИБЛИОГРАФИЯ

1. Taswell C. Limiting dilution assays for the determination of immunocompetent cell frequencies // J. Immunology. – 1981. – Vol. 126. – P. 1614–1619.
2. Allen G. Rodrigo, Paul C. Goracke, Kiarash Rowhanian, James I. Mullins. Quantitation of target molecules from polymerase chain reaction-based limiting dilution assays // AIDS research and human retroviruses. – 1997. – Vol. 13 (9). – P. 737–742.

19 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

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

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

20 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором и не указанных в данной инструкции, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

21 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

22 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Код серии



Дата изготовления



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Температурный диапазон



Обратитесь к инструкции по применению



Не допускать воздействия солнечного света



Содержимого достаточно для проведения $\leq n$ тестов



Не допускать воздействия влаги



Номер по каталогу



Диапазон влажности



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru

Лист регистрации изменений

[illegible]

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 45 листа(-ов)

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

Ходяков А.В.

Подпись



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 45 ЛИСТОВ
2022 год



Ген. Директор
Варнава И.В.