

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. директора Федерального
бюджетного учреждения науки
«Центральный научно-
исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной службы по
надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека

А.В. Горелов

«15» мая 2019 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом
материале и объектах окружающей среды методом
полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-
флуоресцентной детекцией
«АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL»

АмплиСенс®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3А

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВАРИАНТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	2
СОСТАВ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ	5
ПРИНЦИП МЕТОДА	6
ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.....	8
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	11
ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ МАТЕРИАЛА	13
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	13
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА.....	16
ЭТАП 1. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	18
ЭТАП 2. ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ И ДЕТЕКЦИИ ПРОДУКТОВ ПЦР- АМПЛИФИКАЦИИ	20
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	24
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	27
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	28

ВАРИАНТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в двух вариантах

Вариант FEP

Для ПЦР-амплификации используется амплификатор, например, «Терцик» («ДНК-Технология», Россия); «Gradient Palm Cyclor» («Corbett Research», Австралия). Для детекции используется флуоресцентный ПЦР-детектор «АЛА-1/4» («BioSan», Латвия).

Набор реагентов выпускается в 4 формах комплектации:

Форма 1 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-В» вариант 50, «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,5 мл);

Форма 2 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-В» вариант 50, «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,2 мл);

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,5 мл);

Форма 4 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,2 мл).

ВНИМАНИЕ! Заявленные аналитические характеристики набора реагентов при работе с формами **3** и **4** гарантируются только в случае применения дополнительного комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Вариант FRT

Для ПЦР-анализа используется амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», например, «Rotor-Gene» 3000/6000 («Corbett Research», Австралия).

Набор реагентов выпускается в 2 формах комплектации:

Форма 1 включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-В» вариант 50, «ПЦР-комплект» вариант скрин-титр-FRT;

Форма 2 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант скрин-титр-FRT.

ВНИМАНИЕ! Заявленные аналитические характеристики набора реагентов при работе с формой 2 гарантируются только в случае применения дополнительного комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

СОСТАВ

Комплект реагентов «ДНК-сорб-В» вариант 50 – комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем</i>	<i>Кол-во</i>
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость ¹	15	1 флакон
Раствор для отмывки 1	Прозрачная бесцветная жидкость ¹	15	1 флакон
Раствор для отмывки 2	Прозрачная бесцветная жидкость	50	1 флакон
Сорбент универсальный	Суспензия белого цвета	1,25	1 пробирка
TE-буфер для элюции ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	5,0	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на выделение ДНК из 50 проб, включая контроли.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP – комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК *Legionella pneumophila* с гибридационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» **включает:**

¹ При хранении лизирующего раствора и раствора для отмывки 1 при температуре от 2 до 8 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

Реактив	Описание	Объем	Кол-во
ПЦР-смесь-1-FEP/FRT <i>Legionella pneumophila</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,008	55 пробирок объемом 0,5 или 0,2 мл
ПЦР-смесь-2-FL	Прозрачная бесцветная жидкость	0,77	1 пробирка
ПЦР-смесь-Фон	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
Минеральное масло для ПЦР	Бесцветная вязкая жидкость	4,0	1 флакон
LS3	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	2 пробирки
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 55 реакций амплификации, включая контроли.

К комплекту реагентов прилагаются контрольные образцы этапа выделения:

Реактив	Описание	Объем	Кол-во
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,6	2 пробирки
ВКО STI-338	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
ПКО ДНК <i>Legionella pneumophila</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант скрин-титр-FRT – комплект реагентов для ПЦР-амплификации и количественного определения ДНК *Legionella pneumophila* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» **включает:**

Реактив		Описание	Объем	Кол-во
ПЦР-смесь-1-FEP/FRT <i>Legionella pneumophila</i>		Прозрачная бесцветная жидкость	0,008	70 пробирок объемом 0,2 мл
ПЦР-смесь-2-FL		Прозрачная бесцветная жидкость	0,77	1 пробирка
ДНК-буфер		Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
ДНК-калибраторы	LS1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка
	LS2	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка
	LS3	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 70 реакций амплификации, включая контроли и калибраторы.

К комплекту реагентов прилагаются контрольные образцы этапа выделения:

Реактив		Описание	Объем	Кол-во
ОКО		Прозрачная бесцветная жидкость	1,6	2 пробирки
ВКО STI-338		Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
ПКО ДНК <i>Legionella pneumophila</i>		Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

К комплекту реагентов «ПЦР-комплект» вариант скрин-титр-FRT прилагается на цифровом носителе или находится на официальном сайте Изготовителя программное обеспечение в формате Microsoft® Excel для автоматической обработки результатов.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящая инструкция распространяется на набор реагентов «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL», предназначенный для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией.

Набор реагентов позволяет обнаруживать ДНК *Legionella pneumophila* в концентрации 1×10^3 копий/мл тестируемого биологического материала и концентратов воды.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод качественного выявления ДНК *Legionella pneumophila* в клиническом материале основан на одновременной амплификации участка ДНК гена *mir Legionella pneumophila* и участка гена протромбина человека (эндогенный внутренний контроль). Результат амплификации ДНК *Legionella pneumophila* регистрируется по каналу флуоресценции JOE/Yellow/HEX, результат амплификации ДНК внутреннего контроля регистрируется по каналу FAM/Green. ДНК-мишень, выбранная в качестве внутреннего контроля, является участком генома человека и должна всегда присутствовать в образце в достаточном количестве, эквивалентном количеству клеток в образце (не менее 10^3 геномов), учитывая, что искомый возбудитель является внутриклеточным патогеном. Таким образом, эндогенный внутренний контроль позволяет не только контролировать этапы ПЦР-анализа (выделение ДНК и проведение ПЦР), но и оценивать адекватность забора материала и его хранения. В случаях, если в образце присутствует недостаточное количество клеток, сигнал гена протромбина будет слабым или совсем отсутствовать.

Метод качественного выявления ДНК *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды основан на одновременной амплификации участка ДНК гена *mir Legionella pneumophila* и участка ДНК неконкурентного внутреннего контроля (ВКО STI-338). Результат амплификации ДНК *Legionella pneumophila* регистрируется по каналу флуоресценции JOE/Yellow/HEX, результат амплификации ДНК внутреннего контроля регистрируется по каналу FAM/Green.

Метод количественного выявления ДНК *Legionella pneumophila* в воде (при использовании комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант скрин-титр-FRT) основан на одновременной амплификации в режиме «реального времени» участка ДНК гена *mir Legionella pneumophila* и участка ДНК неконкурентного количественно охарактеризованного и стандартизованного внутреннего контрольного образца (ВКО STI-338). Результат амплификации ДНК *Legionella pneumophila* регистрируется по каналу флуоресценции JOE/Yellow, результат амплификации

ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО STI-338) регистрируется по каналу FAM/Green.

Для определения количества копий ДНК *Legionella pneumophila* и ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО STI-338) в реакционной пробирке используются количественно охарактеризованные калибраторы.

Учет потерь ДНК внутреннего контрольного образца позволяет рассчитать реальную концентрацию ДНК *Legionella pneumophila* в каждом исследуемом образце воды.

При выполнении расчетов **учитывается степень концентрирования воды**, в связи с этим **предварительную подготовку воды проводить строго по инструкции** к данному набору реагентов.

Расчет концентрации ДНК *Legionella pneumophila* ($C_{\text{днк Lp}}$) в 1 л воды проводится по формуле:

$C_{\text{днк Lp}}$ (копий / л) = $K_{\text{днк Lp}} / K_{\text{ВКО STI-338}} * C_{\text{ВКО STI-338}} * 2$, где
 $C_{\text{днк Lp}}$ (копий / л) = Количество копий ДНК *Legionella pneumophila* в 1 л образца воды,
 $K_{\text{днк Lp}}$ (копий / мл) = Расчетное количество копий ДНК *Legionella pneumophila* в 1 мл тестируемой пробы,
 $K_{\text{ВКО STI-338}}$ (копий / мл) = Расчетное количество копий ДНК ВКО STI-338 в 1 мл внутреннего контрольного образца в тестируемой пробе,
 $C_{\text{ВКО STI-338}}$ (копий / мл) = Количество копий ДНК ВКО STI-338 в 1 мл внутреннего контрольного образца (значение указано во вкладыше к набору реагентов),
2 – коэффициент пересчёта, учитывающий изменение объёмов при фильтрации.

ВНИМАНИЕ! Для проведения количественного исследования каждый образец воды необходимо тестировать в двух повторах (начиная с этапа экстракции ДНК), при этом результат выдаётся как среднее из двух полученных значений.

ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Для проведения анализа используется следующий материал

Клинический материал:

- Мокрота (индуцированная мокрота) или аспират из трахеи в одноразовых контейнерах после предварительной подготовки;
- Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки (в «Транспортной среде для хранения и транспортировки респираторных мазков» (РУ № ФСР 2009/05011)) без предварительной подготовки;
- Промывные воды бронхов (бронхоальвеолярный лаваж) в одноразовых контейнерах после предварительной подготовки;
- Секционный материал (фрагменты пораженной части легких) после предварительной подготовки.

Взятие материала со слизистой носоглотки.

Исследуемый материал из носоглотки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами. Зонд с ватным тампоном вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа.

После забора материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков (либо стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида или 0,01 М калий-фосфатного буфера, pH 7,0 (состав: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 3,2 г, KH_2PO_4 – 1,4 г, вода дистиллированная – 1 л)). Конец зонда отламывают или отрезают, с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают, и используют 50 мкл содержимого для последующего анализа.

Взятие материала со слизистой ротоглотки.

Исследуемый материал из ротоглотки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки после предварительного полоскания полости рта водой.

После забора материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков (либо стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида или 0,01 М калий-фосфатного буфера, рН 7,0). Конец зонда отламывают или отрезают, с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают, и используют 50 мкл содержимого для последующего анализа.

ВНИМАНИЕ! Рекомендуется совмещать исследуемый материал из носоглотки и ротоглотки в одной пробирке. Для этого рабочие концы зондов после взятия мазков у пациента помещаются в одну пробирку с 500 мкл транспортной среде для хранения и транспортировки респираторных мазков и исследуются как один образец.

Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки используются для исследования при легионеллезной инфекции, протекающей в форме ОРЗ (лихорадка Понтиак).

Культуры микроорганизмов, подозрительные на *Legionella* spp:

– Колонии ресуспендировать в 1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида или 0,01 М калий-фосфатном-буфере, рН 7,0. Центрифугируют при 12000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удаляют в емкость с дезинфицирующим раствором, осадок ресуспендируют в 50 мкл 0,9 % раствора натрия хлорида. Для исследования используют 50 мкл суспензии.

Допускается **хранение** вышеперечисленного **материала** до проведения исследования **в течение 1 сут** при температуре **от 2 до 8 °С**, **1 мес** при температуре **не выше минус 16 °С**. Дальнейшее хранение материала возможно в течение года при температуре не выше минус 68 °С. Допускается однократное

замораживание-оттаивание материала.

Объекты окружающей среды:

Отбор проб осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб» и ГОСТ Р 51593-2000 «Вода питьевая. Отбор проб»; МУК 4.2.1018-01 «Методические указания по санитарно-микробиологическому анализу питьевой воды»; МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов», **МУК 4.2.2217-07 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды».**

- **Вода** (сточная, из водоема, питьевая) в объеме 0,5 л после предварительной подготовки;
- **Смывы с объектов окружающей среды** берут зондами с тампонами, смоченными стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Рабочую часть зонда с тампоном помещают в пробирку объемом 1,5 мл с 0,5 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, остальную часть зонда отламывают и удаляют. Для исследования используется 50 мкл раствора;
- **Соскобы биопленок** с внутренней поверхности водопроводного, промышленного и иного оборудования (например, из поддонов внутри кондиционеров). Соскобы влажных биопленок с поверхности, находящейся под водой или на границе соприкосновения воды и воздуха, берут сухим стерильным зондом (рабочая часть зонда с тампоном помещается в пробирку объемом 1,5 мл с 0,5 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, остальная часть зонда отламывается и удаляется). Для исследования используется 50 мкл раствора. Соскобы биопленок с высохшей поверхности берут тампонами, смоченными стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Рабочая часть зонда с тампоном помещается в пробирку объемом 1,5 мл с 0,5 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, остальная часть зонда отламывается и удаляется. Для исследования используется 50 мкл раствора;

– **Почва** в количестве 100 г берётся в местах предполагаемого обсеменения и используется после предварительной подготовки.

Допускается **хранение** вышеперечисленного **материала** до проведения исследования **в течение 1 нед** при температуре не выше плюс 20 °С, **1 мес** при температуре **не выше минус 16 °С**. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала. Температурный режим транспортирования не ограничен.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Все манипуляции, связанные с подготовкой проб, проводятся с использованием стерильных ступок, пестиков, инструментов (ножниц, пинцетов, скальпелей), дозаторов переменных объемов, одноразовых полипропиленовых пробирок на 1,5 мл и наконечников с фильтром. Одноразовая пластиковая посуда (пробирки, наконечники) должна сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т, и утилизироваться в соответствии с вышеуказанными документами.

Промывные воды бронхов (бронхоальвеолярный лаваж). Образец перемешивают переворачиванием в исходной емкости. Автоматическим дозатором, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл образца и переносят в пробирку объемом 1,5 мл для проведения центрифугирования при 10000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость аккуратно отбирают, используя наконечник с фильтром, оставляя над осадком 100 мкл жидкости, в которой ресуспендируют осадок. Полученную суспензию (50 мкл) используют для последующей работы.

Мокрота. Дополнительно требуется реагент «Муколизин» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Сбор и предобработка материала выполняется по инструкции к реагенту «Муколизин». Подготовленную мокроту (50 мкл) используют для последующей работы. При необходимости повторного проведения анализа остаток мокроты замораживают при температуре **не выше минус 16 °С**.

Секционный материал гомогенизируют с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков, затем готовят 10 % суспензию на стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида или 0,01 М калий-фосфатном буфере, рН 7,0. Суспензию переносят в пробирку на 1,5 мл и позволяют отстояться осадку в течение 1-3 мин. Надосадочную жидкость (50 мкл) используют для последующей работы. При необходимости повторного проведения анализа остаток суспензии замораживают при температуре **не выше минус 16 °С**.

Подготовка проб объектов окружающей среды проводится согласно **МУК 4.2.2217-07 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды»**.

Подготовка образцов воды:

Воду (0,5 л) предварительно фильтруют с помощью стеклянной воронки через бумажный фильтр. После предварительной фильтрации воду пропускают через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм. После окончания фильтрации мембранный фильтр измельчают стерильными (обожжёнными в пламени горелки) ножницами (в одноразовую чашку Петри) и помещают стерильным (обожжённым в пламени горелки) пинцетом в пробирки объемом 1,5 мл с 1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Пробирку инкубируют при комнатной температуре в течение 15-20 мин, периодически перемешивая на вортексе, чтобы обеспечить переход микрофлоры в раствор. Раствор (50 мкл) используют для последующей работы. Фильтрат хранят при температуре **от 2 до 8 °С в течение 1 нед.** При необходимости более длительного хранения фильтрат замораживают при температуре **не выше минус 16 °С**.

Подготовка проб почвы:

В пробирки на 5 мл с плотно закрывающейся (завинчивающейся) крышкой отдельным шпателем (или одноразовыми лопатками) внести по 0,4–1,0 г (около 1,0 мл) земли. В каждую пробирку внести по 3 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают и декантируют 5 мин. Надосадочная жидкость (50 мкл) используется для последующей работы.

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ МАТЕРИАЛА

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

1. Лизирующий раствор из комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре от 60 до 65 °С до полного растворения кристаллов.
2. К 50 мкл подготовленных образцов (см. раздел «Подготовка исследуемого материала») добавляют 50 мкл ОКО (отрицательного контрольного образца), тщательно перемешивают и добавляют в них отдельным наконечником 300 мкл лизирующего раствора, прогревают при температуре (65±1) °С в течение 15 мин.

Дальнейшие исследования проб проводить как с обеззараженным материалом по порядку процедур, описанных в разделе «Выделение ДНК из исследуемого материала».

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

1. Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.

2. Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
3. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
4. Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
5. Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку², биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

6. Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром³. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских ОТХОДОВ.

² Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

³ Для удаления надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя используются одноразовые наконечники без фильтра.

7. Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
8. Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).
9. Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.
10. К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).
11. Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
12. Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
13. Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
14. Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
15. Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.
16. При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.
17. Листы безопасности реагентов (SDS – safety data sheet) доступны по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека (для форм комплектации, не включающих комплект реагентов «ДНК-сорб-В»).

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека (для формы комплектации, включающей комплект реагентов «ДНК-сорб-В»).

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

Специфические воздействия набора реагентов на организм человека (для всех форм комплектации):

- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА

(с указанием фирм изготовителей/поставщиков):

ЗОНА 1

**Для выделения ДНК из исследуемого материала
требуются:**

1. Стерильный ламинарный шкаф (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия).
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия).
4. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г.

- Ульяновск, Россия).
5. Вортекс (например «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
 6. Отдельный набор автоматических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
 7. Одноразовые полипропиленовые заворачивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл (например, «Ахуген», США).
 8. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия) и наконечников (например, «Ахуген», США).
 9. Одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема до 200 мкл и до 1000 мкл (например, «Ахуген», США).
 10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл (например, «Ахуген», США).
 11. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
 12. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
 13. Емкость с дезинфицирующим раствором.

ЗОНА 2

Для проведения ПЦР-амплификации и гибридизационно-флуоресцентной детекции продуктов ПЦР-амплификации требуются:

(с указанием фирм изготовителей / поставщиков):

Вариант FEP: амплификатор для микропробирок 0,5 мл (например, «Терцик», «ДНК-Технология», Россия или эквивалентный); для микропробирок 0,2 мл (например, «Gradient Palm Cycler», «Corbett Research», Австралия или эквивалентный). Флуоресцентный ПЦР-детектор, например, «АЛА-1/4» («BioSan», Латвия), «Джин» («ДНК-Технология», Россия) или эквивалентный.

Вариант FRT: амплификатор роторного типа, например, «Rotor-Gene» 3000/6000 («Corbett Research», Австралия) или эквивалентный.

1. ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», «Ламинарные системы», Россия).
2. Для приборов для ПЦР в режиме «реального времени» с детекцией через дно пробирки (например, «Rotor-Gene»).

Одноразовые полипропиленовые микропробирки для ПЦР на 0,2 мл (плоская крышка, нестрипованные), (например, «Ахуген», США) для постановки в ротор на 36 пробирок.

Для амплификаторов, адаптированных для ПЦР-пробирок 0,2 мл («Gradient Palm Cyclor», «GeneAmp PCR System 2700» и др.). Одноразовые полипропиленовые микропробирки для ПЦР на 0,2 мл (плоская крышка, нестрипованные) (например, «Ахуген», США).

Для амплификаторов, адаптированных для ПЦР-пробирок 0,5 мл («Терцик» и др.). Одноразовые полипропиленовые микропробирки для ПЦР на 0,5 мл (плоская крышка, нестрипованные) (например, «Ахуген», США).

3. ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», «Ламинарные системы», Россия).
4. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
5. Отдельный набор автоматических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
6. Одноразовые наконечники с фильтром до 200 мкл (например, «Ахуген», США).
7. Штативы для наконечников (например, «Ахуген», США) и микропробирок на 0,2 (0,5) мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
9. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
10. Емкость с дезинфицирующим раствором.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-АНАЛИЗА

ЭТАП 1. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА
(проводится в ЗОНЕ 1 - помещении для обработки исследуемого материала)

Порядок работы

1. Подготовить пробирку **отрицательный контроль выделения ДНК (ОК)**. В пробирку объемом 1,5 мл внести **300 мкл лизирующего раствора и 100 мкл ОК** и **10 мкл ВКО STI-338**.
2. Подготовить пробирку **положительный контроль выделения ДНК (ПК)**. В пробирку объемом 1,5 мл внести

300 мкл лизирующего раствора, 50 мкл ОКО, 10 мкл ВКО STI-338 и 50 мкл ПКО ДНК *Legionella pneumophila*.

3. В подготовленные пробы из объектов окружающей среды и культур микроорганизмов (см. раздел «Обеззараживание материала») отдельными наконечниками с фильтром внести по **10 мкл ВКО-STI-338**. В подготовленные пробы клинического материала (см. раздел «Обеззараживание материала») реагент ВКО не добавлять. Промаркировать пробирки. Перемешивают содержимое микропробирок на вортексе и центрифугируют при 2000-3000 об/мин, чтобы удалить капли с крышек микропробирок.
4. Пробы тщательно перемешать на вортексе, прогреть 5 мин при 65 °С, осадить на вортексе 5 с. Если в пробирках находятся взвешенные частицы (не растворившийся полностью материал) то необходимо процентрифугировать пробирку на микроцентрифуге 5 мин при 8-10 тыс об/мин (10-13 тыс об/мин при радиусе ротора 70 мм) и использовать для выделения ДНК надосадочную жидкость, перенести ее в новую пробирку.
5. Тщательно ресуспендировать **сорбент универсальный** на вортексе. В каждую пробирку отдельным наконечником добавить по **25 мкл** ресуспендированного **сорбента универсального**. Перемешать на вортексе, поставить в штатив на 5 мин, еще раз перемешать и оставить в штативе на 5 мин.
6. Осадить сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при 8-10 тыс об/мин (10-13 тыс об/мин при радиусе ротора 70 мм) в течение 30 с. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.
7. Добавить в пробы по **300 мкл раствора для отмывки 1**, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, процентрифугировать 30 с при 8-10 тыс об/мин (10-13 тыс об/мин при радиусе ротора 70 мм) на микроцентрифуге. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.
8. Добавить в пробы по **500 мкл раствора для отмывки 2**,

перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального, центрифугировать 30 с при 8-10 тыс об/мин (10-13 тыс об/мин при радиусе ротора 70 мм) на микроцентрифуге. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.

9. Повторить отмывку еще раз, следуя пункту 8, удалить надосадочную жидкость полностью.
10. Поместить пробирки в термостат при температуре 65 °С на 5-10 мин для подсушивания сорбента универсального. При этом крышки пробирок должны быть открыты.
11. В пробирки добавить по **50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК**. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре 65 °С на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе.
12. Центрифугировать пробирки при 8-10 тыс об/мин (10-13 тыс об/мин при радиусе ротора 70 мм) в течение 1 мин на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

Очищенную ДНК можно хранить в течение 1 нед при температуре от 2 до 8 °С и в течение года при температуре не выше минус 16 °С.

ЭТАП 2. ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ И ДЕТЕКЦИИ ПРОДУКТОВ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ

(проводится в ЗОНЕ 2 - помещении для проведения ПЦР-амплификации)

Общий объем реакции - 25 мкл, объем ДНК-пробы - 10 мкл.

ВНИМАНИЕ! Перед работой необходимо ознакомиться с инструкциями к соответствующим приборам и «Методическими Рекомендациями по применению набора реагентов для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL», утвержденные директором ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора».

В комплекте реагентов применяется «горячий старт», который обеспечивается разделением нуклеотидов и Taq-полимеразы прослойкой воска. Плавление воска и перемешивание реакционных компонентов происходит только при 95 °С, что значительно снижает количество неспецифически затравленных реакций.

Вариант FEP

Порядок работы

А. Подготовка пробирок для проведения ПЦР

1. Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila* для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.

ВНИМАНИЕ! Выбор пробирок для амплификации зависит от используемых приборов:

– пробирки объемом **0,2 мл** для амплификаторов «GeneAmp PCR System 2700» («Applied Biosystems»), «Gradient Palm Cycler» («Corbett Research»), «Uno-2» («Biometra»).

– пробирки объемом **0,5 мл** для амплификаторов «Терцик» («ДНК-Технология»), «Uno-2» («Biometra»).

2. На поверхность воска внести по **7 мкл ПЦР-смеси-2-FL**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila*.

3. Сверху добавить по капле **минерального масла для ПЦР⁴** (примерно 25 мкл).

4. Приготовить 2 контрольных образца «Фон». Для этого в две пробирки с **ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila*** на поверхность воска внести **17 мкл ПЦР-смеси-Фон**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila*. Сверху добавить каплю **минерального масла для ПЦР**.

Б. Проведение амплификации

1. В подготовленные для ПЦР пробирки внести отдельными наконечниками с фильтром по **10 мкл ДНК-проб**, выделенных из исследуемых или контрольных проб этапа

⁴ При использовании амплификатора с термостатируемой крышкой минеральное масло для ПЦР можно не применять.

выделения ДНК.

2. Поставить **контрольные реакции амплификации**:
 - а) **отрицательный контроль (К-)** – в подготовленную для ПЦР пробирку внести **10 мкл ДНК-буфера**.
 - б) **положительный контроль (К+)** – в подготовленную для ПЦР пробирку внести **10 мкл LS3**.
3. Запустить на амплификаторе нужную программу (см. табл. 1).
Программы амплификации для приборов разных изготовителей см. также в «Методических Рекомендациях по применению набора реагентов для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL», утвержденными директором ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора», в которых уточняются параметры программирования соответствующего амплификатора и проведения детекции с использованием программного обеспечения флуоресцентного ПЦР-детектора.
4. Когда температура в ячейках достигнет 95 °С (режим паузы) поставить пробирки в ячейки амплификатора и нажать кнопку продолжения программы. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием на вортексе (1-3 с).

Таблица 1

Программа амплификации ДНК *Legionella pneumophila*

Амплификатор с активным регулированием (по раствору в пробирке) ⁵			
цикл	температура, °С	время	циклы
0	95	пауза	
1	95	2 мин	1
2	95	10 с	10
	60	20 с	
	72	10 с	
3	95	10 с	35
	56	20 с	
	72	10 с	
4	10	хранение	

⁵ Например, «Терцик» («ДНК-Технология»).

Вариант FRT

Порядок работы

А. Подготовка пробирок для проведения ПЦР

1. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila*** для амплификации ДНК исследуемых, контрольных проб и калибраторов.
2. На поверхность воска внести по **7 мкл ПЦР-смеси-2-FL**, при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с ПЦР-смесью-1-FEP/FRT *Legionella pneumophila*.

Б. Проведение амплификации

1. В подготовленные для ПЦР пробирки внести по **10 мкл ДНК-проб**, выделенных из исследуемых или контрольных проб этапа выделения ДНК.
2. Поставить **контрольные реакции амплификации**:
При проведении качественного анализа:
 - а) **отрицательный контроль (К-)** – в подготовленную для ПЦР пробирку внести **10 мкл ДНК-буфера**.
 - б) **положительный контроль (К+)** – в подготовленную для ПЦР пробирку внести **10 мкл LS3**.
При проведении количественного анализа:
 - а) **отрицательный контроль (К-)** – в подготовленную для ПЦР пробирку внести **10 мкл ДНК-буфера**.
 - б) **калибраторы** – в подготовленные для ПЦР три пробирки внести по **10 мкл** каждого ДНК-калибратора (**LS1, LS2** или **LS3**).
3. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала согласно описанию для данного прибора (см. табл. 2).

Программирование амплификатора см. также в «Методических Рекомендациях по применению набора реагентов для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора».

Таблица 2

Программа амплификации для приборов роторного типа⁶

Этап	Температура, °С	Продолжительность этапа	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	95	5 мин	–	1
2	95	10 с	–	10
	60	20 с	–	
	72	10 с	–	
3	95	10 с	–	35
	56	20 с	FAM/Green, JOE/Yellow	
	72	10 с	–	

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты интерпретируются в соответствии с «Методическими Рекомендациями по применению набора реагентов для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора».

Качественный анализ (вариант FEP)

Полученные результаты интерпретируют на основании данных об уровне флуоресцентного сигнала в исследуемых образцах относительно уровня сигнала в образцах «фон». Интерпретация происходит автоматически с помощью программного обеспечения используемого флуоресцентного ПЦР-детектора. Для интерпретации результата по каждому каналу детекции используются установленные пороговые значения. Детекция ДНК *Legionella pneumophila* проводится по каналу HEX (или аналогичному, в зависимости от модели прибора). Детекция ДНК ВКО проводится по каналу FAM (или аналогичному, в зависимости от модели прибора). Результат считается достоверным только в случае прохождения положительных и отрицательных контролей выделения ДНК и амплификации.

⁶ Например, «Rotor-Gene» 3000 и «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Австралия).

Образцы, для которых получен отрицательный результат по всем каналам (кроме К-), требуют повторного проведения ПЦР и детекции. В случае если данный результат получен повторно, требуется повторить анализ образца, начиная с этапа выделения. Для образца «К-» отрицательный результат по всем каналам является нормой.

Образцы, для которых ВКО положительный, а значения специфического сигнала лежат в диапазоне значений выше отрицательного порога, но не превышают положительного порога для данного канала, требуют повторного проведения ПЦР и детекции. В случае повторения аналогичного результата образцы считать положительными. При получении при повторной постановке отрицательного результата образец считать сомнительным и рекомендовать повторный забор материала для анализа.

Отсутствие положительного сигнала в пробе с положительным контролем ПЦР может свидетельствовать о неправильно выбранной программе амплификации и о других ошибках, допущенных на этапе постановки ПЦР. В таком случае необходимо провести ПЦР еще раз.

Если в отрицательном контроле (ОК или К-) детектируется положительный сигнал, значит, произошла контаминация реактивов или проб. В этом случае результаты анализа по всем пробам считаются недействительными. Требуется повторить анализ проб, а также предпринять меры по выявлению источника контаминации.

Качественный анализ (вариант FRT)

Полученные результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла (*C_t*) в соответствующей графе в таблице результатов).

Детекция ДНК *Legionella pneumophila* проводится по каналу Yellow (JOE или аналогичному, в зависимости от модели прибора). Детекция ДНК ВКО проводится по каналу Green (FAM или аналогичному, в зависимости от модели прибора).

Результат считается достоверным только в случае

прохождения положительных и отрицательных контролей выделения ДНК и амплификации. Результаты анализа не подлежат учету, если в таблице результатов для отрицательного контроля выделения на канале Yellow и для отрицательного контроля ПЦР на любом из каналов появляется любое значение (Ct), что свидетельствует о наличии контаминации реактивов или образцов. В этом случае результаты анализа по всем пробам считаются недействительными. Требуется повторить анализ всех проб, а также предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации.

Количественный анализ (вариант FRT)

При проведении количественного анализа используют значения концентраций калибраторов ДНК *Legionella pneumophila* и калибраторов ДНК ВКО-STI-338 указанные во вкладыше к набору реагентов. Расчет количества копий ДНК *Legionella pneumophila* в 1 мл тестируемой пробы проводится автоматически программой прибора по заданным значениям калибраторов, и полученное значение появляется в соответствующей графе в таблице результатов.

Расчет концентрации ДНК *Legionella pneumophila* в 1 л воды ($C_{\text{днк Лр}}$ (копий / л)) проводят вручную или с использованием программного обеспечения, прилагающегося к комплекту реагентов, по следующей формуле:

$C_{\text{днк Лр}}$ (копий / л) = $K_{\text{днк Лр}} / K_{\text{вко-sti-338}} * C_{\text{вко-sti-338}} * 2$, где

$K_{\text{днк Лр}}$ (копий / мл) = Расчетное количество копий ДНК *Legionella pneumophila* в 1 мл тестируемой пробы,

$K_{\text{вко-sti-338}}$ (копий / мл) = Расчетное количество копий ДНК ВКО-STI-338 в 1 мл внутреннего контрольного образца в тестируемой пробе,

$C_{\text{вко-sti-338}}$ (копий / мл) = Количество копий ДНК ВКО-STI-338 в 1 мл внутреннего контрольного образца (значение указано во вкладыше к набору реагентов),

2 – коэффициент пересчёта.

Количественный анализ является достоверным, если полученное значение расчетной концентрации контрольной пробы «ПК» *Legionella pneumophila*, укладывается в пределы диапазона заданного во вкладыше к набору реагентов.

Результаты анализа образца являются недействительными, если количество копий ДНК ВКО-STI-338 в 1 мл тестируемой пробы, ниже среднего значения концентрации ДНК препарата ВКО-STI-338, указанного во вкладыше к набору реагентов, более чем в 5 раз. Это свидетельствует о низкой эффективности выделения ДНК из данного образца или о неэффективной очистке от ингибиторов – необходимо протестировать образец повторно, начиная с этапа выделения ДНК.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 9 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. При получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение. Комплект реагентов «ДНК-сорб-В» хранить при температуре от 2 до 25 °С. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: cs@pcr.ru⁷.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

Е.Н. Родионова

Главный врач
ФГБУЗ ГЦГ и Э ФМБА России



С.А. Богдан

⁷ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.