

Приказом Росздравнадзора
от 16.07.2013 № 3218-Пр/13

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального
бюджетного учреждения науки
«Центральный научно-
исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека
В.И.Покровский
« 16 » август 2012 г.

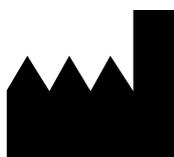


ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления ДНК трематод рода *Schistosoma*
в клиническом материале методом полимеразной цепной
реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией

«АмплиСенс[®] *Schistosoma* spp.-FL»

АмплиСенс[®]



Федеральное бюджетное учреждение науки
«Центральный научно-исследовательский
институт эпидемиологии»,
Российская Федерация, 111123,
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3а

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	3
ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	5
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	7
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА....	8
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....	8
ФОРМАТ FRT	10
СОСТАВ	10
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	10
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	11
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	11
А. Подготовка пробирок для амплификации	11
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	12
АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	13
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	15
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	16

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО-FL	- Внутренний контрольный образец
В-	- Отрицательный контроль экстракции
К+	- Положительный контроль ПЦР
К-	- Отрицательный контроль ПЦР
ОКО	- Отрицательный контрольный образец
ПКО	- Положительный контрольный образец
ПЦР	- Полимеразная цепная реакция
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
FRT	- Флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиСенс® *Schistosoma* spp.-FL» предназначен для выявления ДНК трематод рода *Schistosoma* (*Sch. haematobium*, *Sch. mansoni*, *Sch. intercalatum*, *Sch. japonicum*, *Sch. mekongi*) в клиническом материале (фекалии, моча) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации.

ВНИМАНИЕ! Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания¹.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Выявление ДНК трематод рода *Schistosoma* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией включает в себя два этапа: экстракцию ДНК из образцов клинического материала и амплификацию участка ДНК данного микроорганизма с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, которая производится непосредственно в ходе ПЦР. Экстракция ДНК из клинического материала проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-FL), который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Затем с полученными пробами ДНК проводится реакция амплификации участка ДНК шистосом при помощи специфичных к этому участку ДНК праймеров и фермента Taq-полимеразы.

В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-

¹ В соответствии с Директивой Европейского Союза 98/79/ЕС.

меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

В наборе реагентов применяется «горячий старт», что значительно снижает количество неспецифических реакций. «Горячий старт» обеспечивается использованием химически модифицированной Таq-полимеразы. Химически модифицированная полимеразы (ТаqF) активируется при прогреве реакционной смеси при 95 °С в течение 15 мин.

ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в 1 формате.

Формат FRT

Набор реагентов выпускается в 2 формах комплектации:

Форма 1 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F.

Форма 2 включает наборы реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Форма комплектации 1 предназначена для проведения амплификации ДНК трематод рода *Schistosoma* с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Форма комплектации 2 предназначена для производственных целей для последующей маркировки на языке заказчика и комплектации по наборам.

ВНИМАНИЕ! Форма комплектации 2 используется только в соответствии с регламентом, утвержденным ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность

Вид клинического материала	Комплект для экстракции ДНК	Комплект для амплификации и детекции	Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл ²
Фекалии	«РИБО-преп»	«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F	1x10 ³
Моча	«РИБО-преп»	«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F	1x10 ³

Аналитическая специфичность

Специфичность набора реагентов проверялась на следующих штаммах микроорганизмов: *Astrovirus*, *Norovirus II*, *Rotavirus A*, *Chlamydia trachomatis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* ГИСК 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Leptospira interrogans*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pantoea agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ГИСК 11137, *Salmonella typhi* Central Public Health Laboratory (London) 5715, *Salmonella Dublin*, *Shigella sonnei* ГИСК 9090, *Shigella flexneri* 2a ГИСК 1270, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Trichomonas vaginalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, а также ДНК *Ascaris suis*, *Dirofilaria immitis*, ДНК человека.

При проведении тестирования данной панели неспецифических реакций выявлено не было.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических 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

² Количество геномных эквивалентов микроорганизма (ГЭ) в 1 мл образца клинического материала.

«Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует 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».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы 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.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Применять набор строго по назначению, согласно данной

- инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.
 - Не использовать набор по истечении срока годности.
 - Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
 - Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
 - Листы безопасности материалов (MSDS – material safety data sheet) доступны по запросу.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Комплект реагентов для выделения ДНК – «РИБО-преп» (ТУ 9398-071-01897593-2008) или другие рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.
2. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.
3. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-«Ламинар.-с», «Ламинарные системы», Россия).
4. Центрифуга/вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
5. Автоматические дозаторы переменного объема (от 5 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл) (например, «Ленпипет», Россия).
6. Одноразовые наконечники с фильтром до 100 и 200 мкл в штативах (например, Ахуген, США).
7. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
10. Емкость для сброса наконечников.
11. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия), iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), CFX96 (Bio-Rad, США), «ДТ-96» («ДНК-

Технология», Россия) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов).

12. Одноразовые полипропиленовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл или 0,1 мл

а) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с круглой или плоской оптически прозрачной крышкой – при использовании прибора планшетного типа;

б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axugen, США) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene, объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, Corbett Research, Австралия; QIAGEN, Германия) – при использовании прибора роторного типа.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2008 г.

Материалом для исследования служат: фекалии и моча человека.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Фекалии

В соответствующее пробам количество пробирок (объемом 1,5 мл) вносят 0,8 мл стерильной воды. В каждую пробирку отдельным наконечником с фильтром (или одноразовыми лопатками) вносят 0,1 г фекалий и тщательно ресуспендируют на вортексе в течение 3-5 мин. Суспензии отстаивают при комнатной температуре в течение 3-5 мин и 100 мкл верхней фазы суспензии используют для экстракции ДНК.

Моча

Взбалтывают флакон с мочой. Переносят 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугируют 5 мин при 10000 g (12000 об/мин на центрифуге MiniSpin, Eppendorf, Германия). Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой,

полностью удаляют надосадочную жидкость, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавляют стерильный физиологический раствор до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешивают содержимое на вортексе. При наличии большого количества солей ресуспендируют только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл и затем снова концентрируют.

Возможно также последовательное концентрирование: сначала 10-20 мл мочи центрифугировать 10 мин при 9000 g, затем осадок и 1 мл надосадочной мочи центрифугировать 10 минут при 11000 g (13000 об./мин на центрифуге MiniSpin, Eppendorf, Германия).

ФОРМАТ FRT**СОСТАВ**

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F – комплект реагентов для амплификации фрагмента ДНК трематод рода *Schistosoma* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Кол-во</i>
ПЦР-смесь-1-FL <i>Schistosoma</i> spp.	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
ПЦР-смесь-2-FRT	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	1 пробирка
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	1 пробирки
ПКО ДНК <i>Schistosoma haematobium</i> / STI	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
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 экстракции:

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Кол-во</i>
ВКО-FL	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- Экстракция ДНК из исследуемых образцов.
- Амплификации с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».
- Анализ и интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от используемого оборудования изложена в методических рекомендациях по применению набора реагентов для выявления ДНК трематод рода *Schistosoma* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной

детекцией «АмплиСенс® *Schistosoma* spp.-FL», разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используется комплект реагентов «РИБО-преп» в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов.

Экстракция ДНК из каждого клинического образца проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-FL). В качестве отрицательного контроля экстракции (В–) используют **ОКО**.

ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

А. Подготовка пробирок для амплификации

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Разморозить реагенты набора, хранящиеся при температуре не выше минус 16 °С. Все реагенты набора тщательно перемешать на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием с помощью центрифуги/вортекса.
2. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
3. Для проведения N реакций (включая 2 контроля ПЦР) смешать в отдельной пробирке **10х(N+1) мкл ПЦР-смеси-1-FL *Schistosoma* spp.**, **5,0х(N+1) мкл ПЦР-смеси-2-FRT** и **0,5х(N+1) мкл полимеразы (TaqF)**.
4. Перемешать подготовленную смесь и осадить капли кратковременным центрифугированием с помощью центрифуги/вортекса.
5. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** подготовленной смеси.
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**,

полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.

7. Поставить контрольные реакции:

а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**.

б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК *Schistosoma haematobium* / STI**.

Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

1. Запрограммировать прибор (амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени») для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 1).

Таблица 1

Программа амплификации

Цикл	Приборы роторного типа ³			Приборы планшетного типа ⁴		
	Температура, °С	Время	Кол-во циклов	Температура, °С	Время	Кол-во циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
2	95	10 с	5	95	10 с	5
	60	20 с		60	25 с	
	72	10 с		72	25 с	
3	95	10 с	40	95	10 с	40
	55	20 с детекция флуоресц. сигнала		55	25 с детекция флуоресц. сигнала	
	72	10 с		72	25 с	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по двум каналам – для флуорофоров FAM⁵ и JOE⁵ (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам).

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

3. Запустить выполнение программы амплификации с

³ Например, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов.

⁴ Например, iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), CFX96 (Bio-Rad, США), «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов.

⁵ Название каналов детекции для соответствующего прибора см. в методических рекомендациях к набору реагентов.

детекцией флуоресцентного сигнала.

4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам:

- по каналу для флуорофора FAM регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации фрагмента ДНК ВКО-FL,
- по каналу для флуорофора JOE регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации ДНК трематод рода *Schistosoma*.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла *Ct* в соответствующей графе в таблице результатов.

Принцип интерпретации результатов следующий:

- ДНК трематод рода *Schistosoma* **обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE определено значение порогового цикла *Ct*, не превышающее указанное граничное значение. При этом кривая флуоресценции данной пробы должна пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.
- ДНК трематод рода *Schistosoma* **не обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE не определено (отсутствует) значение порогового цикла *Ct* (кривая флуоресценции не пересекает пороговую линию), а в таблице результатов по каналу для флуорофора FAM определено значение порогового цикла *Ct*, не превышающее указанное граничное значение.
- Результат анализа **невалидный**, если для данной пробы не определено (отсутствует) значение порогового цикла *Ct* по каналу для флуорофора JOE, и по каналу для флуорофора FAM значение *Ct* также не определено (отсутствует) или

превышает указанное граничное значение. В этом случае требуется повторно провести ПЦР-исследование соответствующего клинического образца.

ВНИМАНИЕ! Граничные значения *Ct* указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов. См. также методические рекомендации по применению набора для выявления ДНК трематод рода *Schistosoma* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Schistosoma* spp.-FL», разработанные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК в соответствии с табл. 2.

Таблица 2

Результаты контролей различных этапов ПЦР-исследования

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Значение порогового цикла, <i>Ct</i>	
		по канал для флуорофора FAM	по канал для флуорофора JOE
В–	Экстракция ДНК	Определено значение меньше граничного	Значение отсутствует
К–	ПЦР	Значение отсутствует	Значение отсутствует
К+	ПЦР	Определено значение меньше граничного	Определено значение меньше граничного

ВНИМАНИЕ!

1. Если для положительного контроля ПЦР (К+) значение порогового цикла *Ct* по каналу для флуорофора JOE отсутствует или превышает граничное значение, необходимо повторить амплификацию для всех образцов, в которых не обнаружена ДНК трематод рода *Schistosoma*.
2. Если для отрицательного контроля экстракции ДНК (В–) и/или отрицательного контроля ПЦР (К–) по каналу для флуорофора JOE определено значение порогового цикла *Ct*, необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК трематод рода *Schistosoma*, начиная с этапа экстракции ДНК.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 9 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

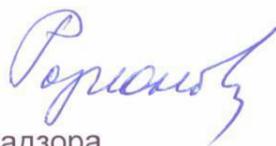
Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение. Набор реагентов хранить при температуре от 2 до 8 °С. ПЦР-смесь-1-FL *Schistosoma* spp., ПЦР-смесь-2-FRT и полимеразу (TaqF) хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-1-FL *Schistosoma* spp. хранить в защищенном от света месте.

Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество набора реагентов «**АмплиСенс® Schistosoma spp.-FL**» направлять на предприятие-изготовитель ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (111123 г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а) в отдел по работе с рекламациями и организации обучения (тел. (495) 974-96-46, факс (495) 916-18-18, e-mail: products@pcr.ru)⁶.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора



Е.Н. Родионова

Главный врач ФГБУ «Поликлиника № 1»
Управления делами Президента
Российской Федерации



Е.Л. Никонов

⁶ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер в каталоге



Осторожно! Обратитесь к сопроводительной документации



Код партии



Максимальное число тестов



Изделие для in vitro диагностики



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к руководству по эксплуатации



Ограничение температуры



Не допускать попадания солнечного света



Производитель



Дата изготовления