

In vitro диагностикаға арналған медициналық бұйымды қолдану жөніндегі нұсқаулық

Медициналық бұйымның атауы

«АмплиСенс® HBV-FL» гибридизациялық-флуоресценттік детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісімен клиникалық материалда В (HBV) гепатиті вирусының ДНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағы.

Медициналық бұйымның құрамы мен сипаттамасы

Қысқартулар тізімі

Осы нұсқаулықта мынадай қысқартулар мен белгілер қолданылады:

ІБҮ	– ішкі бақылау үлгісі
Б+	– ПТР оң бақылауы
Б–	– ПТР теріс бақылауы
ТБҮ	– теріс бақылау үлгісі
ТБ	– экстракцияны теріс бақылау
ОБ	– экстракцияны оң бақылау
ОБҮ	– оң бақылау үлгісі
ПТР	– полимеразалық тізбекті реакция
Роспотребнадзор эпидемиология ФЗИ ФБУН	– Тұтынушылардың құқықтарын қорғау және адамның амандығын қадағалау жөніндегі федералдық қызметтің «Орталық ғылыми-зерттеу эпидемиология институты» федералдық бюджеттік ғылым мекемесі
FER	– «соңғы нүкте» бойынша флуоресценттік детекция
FRT	– «нақты уақыт» режиміндегі флуоресценттік детекция
HBV	– В гепатиті вирусы
HCV	– С гепатиті вирусы
HDV	– D гепатиті вирусы («Дельта»)
HGV	– G гепатиті вирусы

Әдіс принципі

Тестілеу принципі ІБҮ-мен бірлесіп қан плазмасынан ДНҚ экстракциясына және «соңғы нүкте бойынша» (FER форматы) немесе «нақты уақыт» режимінде (FRT форматы) гибридизациялық-флуоресценттік детекциямен ДНҚ амплификациялауды жүргізуге негізделеді. FAM флюорофорына сәйкес келетін канал бойынша ІБҮ амплификация өнімі детекцияланады. JOE флюорофорына сәйкес келетін канал арқылы HBV ДНҚ күшейту өнімі детекцияланады. ОБҮ-1-HBV экстракция кезеңінің оң бақылау үлгісі FAM (ІБҮ) және JOE (HBV) тиісті флюорофорларына каналдар бойынша детекцияланады. Амплификацияның бақылау үлгісі – KB2 HBV HBV және ІБҮ үшін кешенді болып табылады және FAM (ІБҮ) және JOE (HBV) тиісті флюорофорларына каналдар бойынша дәл осылай детекцияланады.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Реагенттердің, калибраторлардың және бақылау материалдарының сипаттамасы

РЕАГЕНТТЕР ЖИНАҒЫНЫҢ ФОРМАТТАРЫ ЖӘНЕ ШЫҒАРЫЛУ ТҮРЛЕРІ

Реагенттер жинағы 2 форматта шығарылады.

FEP форматы

4-форма «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығын қамтиды, FRT нұсқасы.

4 жиынтықталым формасы «соңғы нүкте» бойынша гибридизациялық-флуоресценттік детекциясымен ДНҚ амплификациялауға арналған. Толық ПТР-зерттеу жүргізу үшін Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған РНҚ/ДНҚ экстракциясына арналған реагенттер жиынтығын пайдалану қажет.

FRT форматы

4-форма «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығын қамтиды, FRT нұсқасы.

4 жиынтықталым формасы «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресценттік детекциясымен ДНҚ амплификациялауға арналған. Толық ПТР-зерттеу жүргізу үшін Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған РНҚ/ДНҚ экстракциясына арналған реагенттер жиынтығын пайдалану қажет.

Тестілеуді (талдауды) жүргізу үшін қажетті, бірақ *in vitro* диагностикасына арналған медициналық бұйымды жеткізу жиынтығында қамтылмаған материалдар мен арнайы материалдардың тізбесі

Қосымша материалдар мен жабдықтар

1 АЙМАҚ. Клиникалық материалдан ДНҚ экстракциясы

1. Ламинарлық бокс.
2. Центрифуга/вортекс.
3. Айнымалы көлемдегі автоматты дозаторлар.
4. Бір реттік полипропилен бұрандалы немесе тығыз жабылатын, көлемі 1,5 мл пробиркалар.
5. 200 мкл дейін және 1000 мкл дейін сүзгісі бар бір реттік ұштықтар.
6. Көлемі 1,5 мл ұштықтар мен пробиркаларға арналған штативтер.
7. Тоңазытқыш 2-ден 8 °С-ге дейін.
8. Жеке халат, бас киім, аяқ киім және бір рет қолданылатын қолғаптар МУ 1.3.2569-09.
9. Дезинфекциялық ерітіндісі бар ыдыс.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

«РИБО-сорб» (ТШ 9398-004-01897593-2008) немесе «РИБО-преп» (ТШ 9398-071-01897593-2008) реагенттер жиынтығын пайдаланғанда:

1. «Эппендорф» типті пробиркаларға арналған термостат 25-тен 100 °С-ге дейін.
2. «Эппендорф» типті пробиркаларға арналған микроцентрифуга 12 мың g дейін.
3. Шөгінді үсті сұйықтықты кетіруге арналған колба-қармағышы бар медициналық вакуумдық сорғыш.
4. 200 мкл дейінгі бір реттік ұштықтар.
5. 10-20 мл бір реттік құты.

«МАГНО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде (ТУ 9398-106-01897593-2012):

1. Көлемі 5 мл пробиркаға арналған термостат, диаметрі 12 мм 25-тен 100 °С-ге дейін.
2. «Эппендорф» типті пробиркаларға арналған термостат 25-тен 100 °С-ге дейін.
3. 1,5 мл-ге «Эппендорф» типті пробиркаға арналған магниттік штатив.
4. 5 мл-ге пробиркаға арналған магниттік штатив, диаметрі 12 мм.
5. Шөгінді үсті сұйықтықты кетіруге арналған колба-қармағышы бар медициналық вакуумдық сорғыш.
6. Бір реттік полипропилен бұрандалы немесе тығыз жабылатын, көлемі 1,5 мл пробиркалар.
7. Көлемі 5 мл дейінгі диаметрі 12 мм, түбі дөңгелек, бір реттік полипропилен немесе полистирол пробиркалар.
8. Диаметрі 12 мм 5 мл дейінгі пробиркаға арналған бір реттік полипропилен қақпақтар.
9. 1000-нан 5000 мкл-ге дейін дозалау мүмкіндігі бар айнымалы көлемдегі автоматты дозатор.
10. Бір реттік ұштықтар 200 мкл дейін, 1000 мкл дейін және 5000 мкл дейін.

Нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған автоматты станцияларды пайдалану кезінде:

11. РНК/ДНК экстракциясының автоматты станциясы (мысалы, NucliSENS easyMAG (bioMérieux, Франция)).
12. Автоматты станцияға реактивтер мен шығыс материалдарының жинағы (мысалы, NucliSENS easyMAG (NucliSens экстракция буфері 1, NucliSens экстракция буфері 2, NucliSens экстракция буфері 3, NucliSens лизиске арналған буфер, NucliSens магниттелген силика) (bioMérieux, Франция)).
13. NucliSENS® easyMAG (Biomérieux, Франция) сияқты автоматты станция үшін «ЕМ-плюс» реагенттерінің қосымша жиынтығы қажет (Роспотребнадзор эпидемиология ФЗИ ФБУН, Ресей).

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

2 АЙМАҚ. Амплификация өнімдеріне кері транскрипция, ПТР және гибридизациялық-флуоресценттік детекция реакциясын жүргізу

1. Абактериялық ауа ортасының боксы (ПТР-бокс).
2. Центрифуга/вортекс.
3. Айнымалы көлемдегі автоматты дозаторлар.
4. Штативтерде 200 мкл дейін сүзгісі бар бір реттік ұштықтар.
5. Көлемі 0,2 мл немесе 0,5 мл пробиркаға арналған штативтер (пайдаланылатын реагенттер жиынтығына сәйкес).
6. Тоңазытқыш 2-ден 8 °С-ге дейін.
7. Жеке халат, бас киім, аяқ киім және бір рет қолданылатын қолғаптар МУ 1.3.2569-09.
8. Ұштықтарды тастауға арналған ыдыс.
«ПТР-жиынтықпен» жұмыс істеу кезінде, FER нұсқасы:
9. Бағдарламаланатын амплификатор (мысалы, «Терцик» («ДНК-Технология», Ресей), Gradient Palm Cyclor (Corbett Research, Австралия), GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, АҚШ), MaxyGene (Axygen, АҚШ немесе осыған ұқсас).
10. Флуоресцентті ПТР детекторы (мысалы, ALA-1/4 (BioSan, Латвия), «Джин-4» («ДНК-Технология», Ресей), «Джин» (4.4i төмен емес п.о. нұсқа) («ДНК-Технология», Ресей) немесе ұқсас).
«ПТР-жиынтықпен» жұмыс істеу кезінде, FRT нұсқасы:
11. Бағдарламаланатын ротор типті амплификатор (мысалы, Rotor-Gene 3000 немесе 6000 (Corbett Research, Австралия)) немесе планшет типті амплификатор (мысалы, iCycler iQ5 (Bio-Rad, АҚШ), Mx3000P (Stratagene, АҚШ)) және осы реагенттер жиынтығын қолдану жөніндегі әдістемелік ұсыныстарда Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған.
12. ПТР үшін көлемі 0,2 мл немесе 0,1 мл бір реттік полипропилен пробиркалар:
 - а) көлемі 0,2 мл дөңес қақпағы бар ПТР арналған жұқа қабырғалы пробиркалар – планшет типті құрылғыны пайдаланғанда;
 - б) көлемі 0,2 мл жайпақ қақпағы бар ПТР арналған жұқа қабырғалы пробиркалар – ротор типті құрылғыны пайдаланғанда;

In vitro диагностикаға арналған медициналық бұйымның тағайындалуы
«АмплиСенс® *HBV-FL*» реагенттер жинағы гибридизациялық-флуоресценттік детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісімен клиникалық материалда В гепатиті вирусының (*HBV*) ДНҚ анықтауға арналған. ПТР жүргізуге арналған материал ретінде қан плазмасынан бөлінген ДНҚ сынамалары қызмет етеді.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ПТР-зерттеу нәтижелері аурудың кешенді диагностикасында ескеріледі.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Аналитикалық сипаттамалары

Аналитикалық сезімталдық

Формат	Экстракция көлемі, мкл	арналған жиынтық ДНҚ экстракциясына	Аналитикалық сезімталдық, ХБ/мл
FER форматы	100	«РИБО-сорб» «РИБО-преп» NucliSENS easyMAG	200
	200	«МАГНО-сорб»	100
	1000	«МАГНО-сорб» NucliSENS easyMAG	20
FRT форматы	100	«РИБО-сорб»	100
		«РИБО-преп» NucliSENS easyMAG	50
	200	«МАГНО-сорб»	50
	1000	«МАГНО-сорб»	10
NucliSENS easyMAG		5	

Аналитикалық ерекшелігі

Реагенттер жинағының аналитикалық ерекшелігін бағалау геномдық РНК/ДНҚ реакциясына келесі организмдер мен вирустарды қосу арқылы жүргізіледі: А гепатиті вирусы, D гепатиті вирусы, С гепатиті вирусы, адамның иммун тапшылығы вирусы, цитомегаловирус, Эпштейн-Барр вирусы, 1,2 типті қарапайым герпес вирусы, желшешек вирусы, 6, 8 типті адам герпесі вирусы, парвовирус В19, кене энцефалиті вирусы, батыс Ніл қызбасының вирусы, 2, 3, 7 типті аденовирус, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Homo sapiens*.

Аталған организмдер мен вирустар үшін айқаспалы реакциялар тіркелген жоқ.

Осыған сәйкес медициналық мақсаттағы бұйым өндірілген нормативтік құжат

ТШ 9398-030-01897593-2012.

Медициналық бұйымды сақтау мерзімі мен шарттары туралы ақпарат

Сақтау мерзімі- 12 ай. Сақтау мерзімі өткен реагенттер жинағы қолдануға жатпайды. Ашылған реагенттердің сақтау мерзімі, егер нұсқаулықта өзгеше көрсетілмесе, ашылмаған реагенттерге арналған заттаңбаларда көрсетілген сақтау мерзіміне сәйкес келеді.

«ПТР-жиынтық» минус 16 °С-ден жоғары емес температурада сақтау керек. KB2 *HBV*, ОБУ-1 -*HBV* және ІБҮ STI-87 екі реттен артық мұздатуға/ерітуге жол берілмейді, KB2 *HBV*, ОБУ-1 - *HBV* және ІБҮ STI-87 ерітілгеннен кейін 6 айдан

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

аспайтын мерзімде 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақтау керек. ПТР-қоспа-1-FL *HBV* жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тасымалдаудың арнайы шарттары туралы ақпарат

Реагенттер жинағын 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 5 тәуліктен асырмай тасымалдау керек. Алынған кезде көрсетілген сақтау температурасына сәйкес бөлшектеңіз.

In vitro диагностикаға арналған медициналық бұйымды қауіпсіз утилизациялауға қатысты ескерту және арнайы сақтық шаралары

Жұмыс СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділігі (қауіптілігі) III-IV топтағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі», СанЕжН 2.1.7.2790-10 «Медициналық қалдықтармен жұмыс істеуге қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар» санитариялық-эпидемиологиялық ережелерін және ӘН 1.3.2569-09 «Патогенділігі I–IV топтағы микроорганизмдер бар материалмен жұмыс істеу кезіндегі нуклеин қышқылдары медициналық қалдықтарды амплификациялау әдістерін пайдаланатын зертханалардың жұмысын ұйымдастыру» әдістемелік нұсқауларын сақтай отырып, инфекциялық ауру қоздырғыштарының болуына клиникалық материалды молекулалық-биологиялық (ПТР) зерттеуді орындайтын зертханада жүргізілуі тиіс.

Жұмыс кезінде әрдайым келесі талаптар орындалуы керек:

- Зерттелетін үлгілерді инфекциялық-қауіпті ретінде қарау, СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділігі (қауіптілігі) III-IV топтағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі» сәйкес жұмысты және сақтауды ұйымдастыру керек.
- СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділігі (қауіптілігі) III-IV топтағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі» сәйкес дезинфекциялау құралдарын пайдалана отырып, төгілген үлгілерді немесе реактивтерді жинау және дезинфекциялау керек.
- Зертханалық процесс бір бағытта болуы тиіс. Талдау жекелеген орынжайларда (аймақтарда) жүргізіледі. Жұмысты Бөліп алу аймағында бастау, Амплификация және Детекция аймағында жалғастыру керек. Процестің алдыңғы кезеңі жүргізілген аймаққа үлгілерді, жабдықтар мен реактивтерді қайтармаңыз.
- Пайдаланылмаған реактивтерді СанЕжН 2.1.7.2790-10 «Медициналық қалдықтармен жұмыс істеуге қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар» сәйкес жою керек.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Амплификациядан кейін қалдықтарды (ПТР өнімдері тұрған пробиркалар) жою кезінде пробиркаларды ашуға және ішіндегісін шашыратуға жол берілмейді, өйткені бұл зертханалық аймақтың, жабдықтар мен реагенттердің ПТР өнімдерімен контаминацияға әкелуі мүмкін.

- Осы нұсқаулыққа сәйкес жинақты қатаң түрде тағайындалуына сай қолданыңыз.
- Жинақпен жұмыс істеуге тек арнайы оқытылған персонал жіберіледі.
- Сақтау мерзімі өткеннен кейін жинақты пайдаланбаңыз.
- Үлгілермен және реактивтермен жұмыс істеу кезінде бір реттік қолғаптарды, зертханалық халаттарды пайдалану, көзді қорғау керек. Жұмыстың соңында қолыңызды мұқият жуыңыз.
- Теріге, көзге және шырышты қабыққа тигізіп алмаңыз. Тигізіп алған жағдайда зақымданған аймақты дереу сумен шайыңыз және медициналық көмекке жүгініңіз.
- Материалдардың қауіпсіздік парақтары (MSDS – material safety data sheet) сұраныс бойынша қолжетімді.

•

Үлгілерді жинау, өңдеу және дайындау үшін қажетті жағдайлар туралы ақпарат, талданатын үлгілердің тұрақтылығы жөніндегі деректер, оның ішінде тасымалдау шарттары, мұздату (еріту) циклдері бойынша шектеулер.

Зерттелетін материалды алу, тасымалдау және сақтау

Жұмысты бастау алдында, Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН әзірлеген «ПТР диагностикасы үшін клиникалық материалды алу, тасымалдау, сақтау» әдістемелік ұсыныстарымен танысу керек Мәскеу, 2008 ж.

ПТР-зерттеу жүргізу үшін шеткері қан плазмасы пайдаланылады. Қанды алу таңертең аш қарынға 1:20 (ЭДТА: қан) есебінен 3% ЭДТА ерітіндісі тұрған пробиркаға жүргізіледі. Қан тұрған жабық пробирканы бірнеше рет төңкереді. Қан алынған сәттен бастап 6 сағат ішінде плазманы алып, жаңа пробиркаға ауыстыру керек. Ол үшін қан құйылған пробирканы 800-1600 g кезінде 20 мин центрифугалайды. Плазманы 2-ден 8 °C-ге дейінгі температурада 3 тәуліктен асырмай және минус 68 °C-ден аспайтын температурада ұзақ сақтауға болады. Қан сарысуын қолдануға рұқсат етіледі. Осы материал үшін реагенттер жиынтығының аналитикалық сезімталдығы сақталады, алайда ретракция кезінде вирус бөлшектерінің шөгуіне байланысты клиникалық сезімталдық айтарлықтай төмендеуі мүмкін. Сарысуды 2-ден 8 °C-ге дейінгі температурада 3 тәуліктен асырмай және минус 68 °C-ден аспайтын температурада ұзақ сақтауға болады.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

In vitro диагностикаға арналған медициналық бұйымды пайдалануға дайындық туралы толық ақпарат

FER форматы

Құрамы

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы нұсқа «соңғы нүкте» бойынша гибридикациялық-флуоресценттік детекциямен В гепатиті вирусының (HBV) ДНҚ амплификациялауға арналған FER-реагенттер жиынтығы–мыналарды қамтиды:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Саны
ПТР-қоспа-1-FL HBV	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,3	4 пробирка
ПТР-қоспа-2-FRT	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	4 пробирка
ПТР арналған минералды май	Түссіз тұтқыр сұйықтық	4,0	1 құты
Полимераза (TaqF)	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,02	4 пробирка
KB2 HBV	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,1	4 пробирка
Элюцияға арналған буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	2 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, 112 амплификация реакциясын жүргізуге есептелген.

Реагенттер жиынтығына экстракция кезеңінің бақылау үлгілері қоса беріледі:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Саны
ТБҮ	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	4 пробирка
ОБҮ-1-HBV	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,06	4 пробирка
ІБҮ STI-87	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,28	4 пробирка

ПТР-зерттеу жүргізу

ПТР-зерттеу келесі кезеңдерден тұрады:

- Зерттелетін үлгілерден ДНҚ экстракциясы.
- Амплификация жүргізу.
- Амплификация өнімдерінің флуоресценттік детекциясы «соңғы нүкте» бойынша.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

– Нәтижелердің интерпретациясы

Зерттелетін үлгілерден ДНҚ экстракциясы

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ДНҚ-мен жұмыс істеу үшін тек RNase-free, DNase-free арнайы таңбасы бар бір реттік стерильді пластик шығыс материалдарын пайдалану қажет.

ДНҚ экстракциясы үшін Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған реагенттер жиынтығы қолданылады:

- **«РИБО-преп»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде жұмыс тәртібін **1**-қосымшадан қараңыз. «РИБО-преп» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы.
- **«РИБО-сорб»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде жұмыс тәртібін **2**-қосымшадан қараңыз. «РИБО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы
- **«МАГНО-сорб»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде 1000 мкл және 200 мкл қан плазмасынан ДНҚ экстракциясына арналған жұмыс тәртібін **3**-қосымшадан қараңыз. «МАГНО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы.

BioMérieux және Qiagen компанияларының нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған автоматты станцияларын реагенттер жинағымен бірге пайдаланғанда хаттамалар мен көлемі 0,1 мл-ден 1 мл-ге дейінгі плазма мен қан сарысуы үлгілерінен РНК/ДНҚ экстракциясын жүргізуге мүмкіндік беретін реагенттерді қолдану қажет.

Экстракция рәсімі автоматты станциялардың нұсқаулығына сәйкес, сондай-ақ мынадай шарттарды ескере отырып жүргізіледі:

- а) Бір сынамаға 10 мкл көлемінде экстракция басталғанға дейін үлгілерге немесе лизирлеуші ерітіндіге ИБҮ енгізу міндетті шарт болып табылады.
- б) Бірнеше түрлі зерттеулер жүргізу үшін үлгіні экстракциялау кезінде (*HDV РНҚ, HCVРНҚ, HGVРНҚ, HBV ДНҚ, АИТВ РНҚ және HCV-генотиптеуді анықтау үшін нуклеин қышқылдарын бір мезгілде экстракциялауға жолберіледі*) ИБҮ барлық талап етілетін препараттарын енгізу (ұқсас).
- в) Бағдарламаланатын элюция көлемі – 50-60 мкл (элюция көлемін 100 мкл дейін ұлғайтуға жол беріледі).
- г) NucliSENS easymag (bioMérieux, Франция) автоматты станциясын пайдалану кезінде «ЕМ-плюс» реагенттерінің қосымша жиынтығын (Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН өндірген) қолдану міндетті болып табылады. Құрылғыда (*On-board*) және құрылғыдан тыс (*Off-board*) **лизис режимдерін пайдалануға жолберіледі**.
- д) ДНҚ экстракциясын аяқтағаннан кейін құрылғыдан пробиркаларды алып, амплификация реакциясын жүргізу керек. Тазартылған ДНҚ-ны 2-ден 8 °С-

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

ге дейінгі температурада 1 апта бойы сақтауға болады. Ұзақ мерзімді сақтау үшін препаратты жыл бойы минус 16 °С-ден жоғары емес температурада сақтау керек.

Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН С гепатитінің Р вирусын (*HCV*) «АмплиСенс® *HCV-FL*», D гепатиті вирусының РНҚ (*HDV*) «АмплиСенс® *HDV-FL*», G гепатиті вирусының РНҚ (*HGV*) «АмплиСенс® *HGV-FL*», В гепатиті вирусының ДНҚ (*HBV*) «АмплиСенс® *HBV-FL*» анықтауға арналған реагенттер жинағын қолдану бойынша әдістемелік нұсқауларын қараңыз.

Амплификация жүргізу

Реакция қоспасының жалпы көлемі – 25 мкл, оған қоса ДНҚ сынамасының көлемі – 10 мкл.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ДНҚ-мен жұмыс істегенде тек RNase-free, DNase-free арнайы таңбасы бар бір реттік стерильді пластик шығыс материалдарын пайдалану қажет.

А. Амплификация үшін пробиркалар дайындау

Амплификацияға арналған пробирканы таңдау қолданылатын камплификаторға байланысты.

Пробиркаларға реагенттерді, ДНҚ сынамаларын және бақылау үлгілерін енгізу үшін сүзгілері бар бір реттік ұштықтар пайдаланылады.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Реакциялық қоспаның компоненттерін ПТР-зерттеу жүргізер алдында бірден араластыру керек. Зерттелетін және бақылау үлгілерін тестілеуді қамтитын реакциялардың қажетті санына есептелген реагенттерді араластыру **есептік кестеге сәйкес** болуы қажет (1-кестені қараңыз).

1. Жұмысты бастағанға дейін жинақтың барлық реагенттерін еріту, вортексте мұқият араластыру және пробирка қақпақтарынан тамшыларды тұндыру керек.
2. Зерттелетін, бақылау үлгілерінің (екі экстракция бақылауы, бір амплификация бақылауы) және «Фон» пробиркаларының санын ескере отырып, 0,2 мл-ге немесе 0,5 мл-ге амплификациялау үшін пробиркалардың қажетті санын іріктеп алу керек. Пайдаланылған құрылғыға байланысты пробирка типін таңдаңыз.
3. **Реакциялық қоспаны дайындау үшін «Фон» пробиркаларын дайындау қажет болғанда бөлек стерильді пробиркада реагенттерді 1 реакцияға: 10 мкл ПТР-қоспа-1-FL *HBV* және 5 мкл ПТР-қоспа-2-FRT есебімен араластыру қажет (1-кестені қараңыз, А тармағы).** Қоспаны вортекске мұқият араластырыңыз және пробирка қақпағынан тамшыларды тұндырыңыз.
4. **«Фон» екі пробиркасына дайындалған 15 мкл қоспадан (полимеразасыз (TaqF)) және 10 мкл элюцияға арналған буферді қосыңыз,** пипеткалау

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

арқылы араластырыңыз. Үстіне ПТР үшін 1 тамшыдан **минералды май қосыңыз**.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Амплификация жүргізуден кейін «Фон» үлгілерін 2-ден 20 °С-ге дейінгі температурада 1 ай бойы сақтауға болады және көп рет қолдануға болады. «Фон» пробиркаларын көп рет пайдалануға оларды сол сериядағы, сол типтегі бөлгіш реагенттердің және ПТР арналған пробирканың сол типіндегі реагенттер жинағымен пайдаланған жағдайда жол беріледі.

5. Реакциялық қоспаның қалған бөлігіне 1 сынамаға **0,5 мкл полимераза (TaqF)** есебімен қосыңыз (**1-кестені қараңыз, А тармағы**). Қоспаны вортекске мұқият араластырыңыз және пробирка қақпағынан тамшыларды тұндырыңыз.

1-кестеде көрсетілген реакциялық қоспаға қосылатын полимераза ферменттерінің (TaqF) саны, екі «Фон» пробиркасы үшін таңдалған 30 мкл реакциялық қоспаны ескере отырып келтірілген.

6. «Фон» үлгілерін қайта пайдаланған жағдайда бөлек стерильді пробиркада 1 реакцияға: **10 мкл ПТР-қоспа-1-FL HBV, 5 мкл ПТР-қоспа-2-FRT және 0,5 мкл полимераза (TaqF)** есебімен араластыру қажет (**1-кестені қараңыз, Б тармағы**). Қоспаны вортекске мұқият араластырыңыз және пробирка қақпағынан тамшыларды тұндырыңыз.

7. Дайын 15 мкл реакциялық қоспаны пробиркаға салыңыз. Үстіне **ПТР үшін 1 тамшыдан минералды май** тамызыңыз.

8. Дайын пробиркаларға клиникалық үлгілерден бөлінген **10 мкл ДНҚ сынамасын** енгізу қажет.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! «РИБО-сорб», «МАГНО-сорб» және NucliSENS easyMAG реагенттері жиынтығының көмегімен бөлінген ДНҚ сынамаларын қосқан кезде сорбенттің реакциялық қоспаға түсуін болдырмау қажет.

9. Бақылау реакцияларын **қойыңыз**:

а) **экстракцияны оң бақылау – (ОБ)**– пробиркаға ОБҮ - 1-*HBV* үлгісінен бөлінген ДНҚ сынамасының 10 мкл енгізу керек.

б) **экстракцияны теріс бақылау (ТБ)** – пробиркаға ТБҮ үлгісінен бөлінген 10 мкл ДНҚ сынамасын енгізу керек.

в) **ПТР (Б+) оң бақылауы**– пробиркаға **10 мкл KB2 HBV** енгізу керек.

Ықтимал контаминацияға күдік болған кезде ПТР (Б–) теріс бақылау қою қажет. Ол үшін дайын реакциялық қоспа тұрған пробиркаға **элюцияға арналған 10 мкл буфер** қосыңыз .

Амплификаторға қояр алдында пробирка қабырғаларынан тамшыларды центрифугада/вортексте (1-3 с) қысқаша центрифугалаумен тұндыру ұсынылады.

1-кесте

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

FER форматы үшін реакциялық қоспаларды дайындау сызбасы

А. Егер пробиркалар «фон» дайындалса

		1-кезең. Екі компоненттің қоспасы. Бақылау нүктелерін ескере отырып, үлгілердің көрсетілген санына реактивтер көлемі және «Фон» 2 үлгісі (полимеразасыз (ТақF), бір үлгіге арналған қор (мкл) ескерілген		2-кезең. Ферменттерді енгізу. Қоспаны «Фон» (мкл) 2 үлгіге іріктегеннен кейін көрсетілген үлгілер санына қосылатын ферменттің саны
Бір реакцияға реагент көлемі (мкл)		10,00	5,00	0,50
Клиникалық үлгілер саны	Зерттелетін нүктелер саны ¹	ПТР-қоспа-1-FL <i>HBV</i>	ПТР-қоспа-2-FRT	Полимераза (ТақF)
6	9	120	60	5,0
10 ²	13	160	80	7,0
22 ³	25	280	140	13,0
34	37	400	200	19,0
46	49	520	260	25,0

Назар аударыңыз! Қосылатын полимеразаның (ТақF) мөлшері екі «Фон» пробиркаларын алып тастау арқылы есептеледі.

б. Егер бұрын дайындалған «фон» пробиркалары пайдаланылса⁴

Бір реакцияға реагент көлемі (мкл)		10,00	5,00	0,50
Клиникалық үлгілер саны	Зерттелетін нүктелер саны	ПТР-қоспа-1-FL <i>HBV</i>	ПТР-қоспа-2-FRT	Полимераза (ТақF)
6	9	100	50	5,0
10	13	140	70	7,0
22	25	260	130	13,0
34	37	380	190	19,0
46	49	500	250	25,0

Б. Амплификация жүргізу

¹ Клиникалық үлгілердің саны + ДНҚ экстракциясы сатысын 2 бақылау + 1 ПТР бақылау (N+3, N –клиникалық үлгілер саны).

² Экстракцияға арналған 12 пробиркадан тұратын панель.

³ Экстракцияға арналған 24 пробиркадан тұратын панель.

⁴ «ФОН» пробиркаларын қайта зерттеуге оларды сол сериядағы, сол типтегі бөлгіш реагенттердің және ПТР арналған пробирканың сол типіндегі реагенттер жинағымен пайдаланған жағдайда жол беріледі.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

1. Амплификаторда амплификацияның тиісті бағдарламасын іске қосыңыз (2-кестені қараңыз). Пробиркаларды амплификатор ұяшықтарына салыңыз, құрылғының қақпағын жауып, бағдарламаның орындалуын бастаңыз.

2.

2-кесте

Амплификация бағдарламасы

Белсенді реттелетін амплификаторлар үшін ⁵				Матрицалық реттелетін амплификаторлар үшін ⁶			
Цикл	Температура, °C	Уақыт	Цикл саны	Цикл	Температура, °C	Уақыт	Цикл саны
1	50	30 мин	1	1	50	30 мин	1
2	95	15 мин	1	2	95	15 мин	1
3	95	2 с	45	3	95	10 с	45
	60	10 с			60	15 с	
					72	15 с	
4	10	Сақтау		4	10	Сақтау	

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Қажет болса, *HCV* РНҚ, *HDV* РНҚ, *HGV* РНҚ, АИТВ РНҚ және *HCV* генотиптеуді анықтау үшін тесттермен бір мезгілде амплификация жүргізілсе, 1-цикл (50 °C - 30 мин) қосылады.

2. Бағдарламаны аяқтағаннан кейін флуоресценттік детекцияға кірісіңіз.

Амплификация өнімдерінің флуоресценттік детекциясы «соңғы нүкте» бойынша

Детекция флуоресценттік ПТР-детектордың көмегімен (тиісті құрылғының нұсқаулығына сәйкес) екі канал бойынша флуоресценттік сигналдың қарқындылығын өлшеу жолымен жүргізіледі:

- FAM каналы бойынша (немесе ұқсас, құрылғының моделіне байланысты) ИБУ ДНҚ амплификациясы өнімінің жиналғаны туралы сигнал тіркеледі.
- HEX каналы бойынша (немесе құрылғының моделіне байланысты ұқсас) *HBV* ДНҚ амплификациясы өнімінің жиналғаны туралы сигнал тіркеледі.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Детекция жүргізілгенге дейін ПТР-детектордың бағдарламалық жасақтамасына тиісті баптаулар енгізіліп, сақталуы тиіс - ПТР-жиынтыққа қосымшаны, сондай-ақ С гепатиті вирусының РНҚ (*HCV*) «АмплиСенс® *HCV*-FL», D гепатиті вирусының РНҚ (*HDV*) «АмплиСенс® *HDV*-FL», G гепатиті вирусының РНҚ (*HGV*) «АмплиСенс® *HGV*-FL», В гепатиті вирусының ДНҚ (*HBV*) «АмплиСенс® *HBV*-FL» анықтауға арналған реагенттер

⁵ Мысалы, «Терцик» («ДНК-Технология»), Gradient Palm Cyclers (Corbett Research), MaxyGene (Axygen), GeneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer).

⁶ Мысалы, GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems), PTC-100 (MJ Research), T-personal (Biometra).

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

жинағын қолдану бойынша Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН әдістемелік нұсқауларды қараңыз.

Нәтижелердің интерпретациясы

Алынған нәтижелер клиникалық үлгілерден бөлінген бақылау үлгілері мен ДНҚ сынамалары үшін тиісті каналдар бойынша фонға қатысты флуоресценттік сигналдың деңгейі туралы деректер негізінде түсіндіріледі. Интерпретация автоматты түрде қолданылатын құрылғының бағдарламалық жасақтамасының көмегімен жүзеге асырылады. Нәтижелерді түсіндіру принципі келесідей:

- теріс нәтиженің анықталған шекті мәнінен кем мәндер теріс, оң нәтиженің анықталған шекті мәнінен артық мәндер – оң, шектер арасында – күмәнді болып қабылданады.
- HEX/Yellow каналы бойынша оң нәтиже сынамада *HBV* ДНҚ бар екенін көрсетеді.
- егер осы сынама үшін FAM каналы бойынша сигнал теріс нәтиженің анықталған шекті мәнінен төмен болса және HEX каналы бойынша сигнал анықталған шекті мәнен төмен болса, зерттеу нәтижесі валидті емес.
- детекцияның күмәнді нәтижесін алған кезде осы сынаманың ПТР-зерттеуін қайта жүргізу талап етіледі.

ПТР-зерттеу нәтижесі, егер 3-кестеге сәйкес оң және теріс бақылаудан өтудің дұрыс нәтижелері алынса, дұрыс деп саналады.

3-кесте

ПТР-зерттеудің әртүрлі кезендерін бақылауға арналған нәтижелер

Бақылау	Бақыланатын кезең ПТР-зерттеулер	Автоматты интерпретациясы нәтижесі
ТБ	ДНҚ экстракциясы, ПТР	FAM/Green – оң HEX/Yellow – теріс
ОБ	ДНҚ экстракциясы, ПТР	FAM/Green – оң HEX/Yellow – оң
Б+	ПТР	FAM/Green – оң HEX/Yellow – оң
Б–	ПТР	FAM/Green – теріс HEX/Yellow – теріс

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ!

1. Егер экстракция кезеңін (ОБ) оң бақылау немесе ПТР (Б+) кезеңін оң бақылау үшін HEX/Yellow каналы бойынша оң нәтиженің шекті мәнінен төмен сигнал алынса, ДНҚ экстракциясы кезеңінен бастап *HBV* ДНҚ табылмаған барлық үлгілер үшін зерттеуді қайталау қажет.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

2. Егер ДНҚ экстракциясын теріс бақылау (ТБ) және/немесе теріс ПТР (Б-) бақылау үшін HEX/Yellow каналы бойынша сигнал оң нәтиженің шекті мәнінен жоғары болса, ДНҚ экстракция кезеңінен бастап *HBV* ДНҚ табылған барлық үлгілер үшін зерттеуді қайталау қажет.

FRT ФОРМАТЫ

ҚҰРАМЫ

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы FRT нұсқа «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресценттік детекциямен В гепатиті вирусының (*HBV*) ДНҚ амплификациялауға арналған реагенттер жиынтығы – мыналарды қамтиды:

<i>Реактив</i>	<i>Сипаттамасы</i>	<i>Көлемі, мл</i>	<i>Саны</i>
ПТР-қоспа-1-FL <i>HBV</i>	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,3	4 пробирка
ПТР-қоспа-2-FRT	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	4 пробирка
Полимераза (TaqF)	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,02	4 пробирка
KB2 <i>HBV</i>	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,1	4 пробирка
Элюцияға арналған буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	2 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, 112 амплификация реакциясын жүргізуге есептелген.

Реагенттер жиынтығына экстракция кезеңінің бақылау үлгілері қоса беріледі:

<i>Реактив</i>	<i>Сипаттамасы</i>	<i>Көлемі, мл</i>	<i>Саны</i>
ТБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	4 пробирка
ОБУ-1-<i>HBV</i>	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,06	4 пробирка
ІБУ STI-87	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,28	4 пробирка

ПТР-зерттеу жүргізу

ПТР-зерттеу келесі кезеңдерден тұрады:

- Зерттелетін үлгілерден ДНҚ экстракциясы.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

- «Нақты уақыт» режимінде гибридациялық-флуоресценттік детекциямен амплификация жүргізу.
- Нәтижелерді талдау және түсіндіру.

Зерттелетін үлгілерден ДНҚ экстракциясы

Зерттелетін үлгілерден экстракция

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ДНҚ-мен жұмыс істеу үшін тек RNase-free, DNase-free арнайы таңбасы бар бір реттік стерильді пластик шығыс материалдарын пайдалану қажет.

ДНҚ экстракциясы үшін Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған реагенттер жиынтығы қолданылады:

- **«РИБО-преп»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде жұмыс тәртібін **1-** қосымшадан қараңыз. «РИБО-преп» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы.
- **«РИБО-сорб»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде жұмыс тәртібін **2-** қосымшадан қараңыз. «РИБО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы.
- **«МАГНО-сорб»** реагенттер жиынтығын пайдалану кезінде 1000 мкл және 200 мкл қан плазмасынан ДНҚ экстракциясына арналған жұмыс тәртібін **3-** қосымшадан қараңыз. «МАГНО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы.

BioMérieux және Qiagen компанияларының нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған автоматты станцияларын реагенттер жинағымен бірге пайдаланғанда хаттамалар мен көлемі 0,1 мл-ден 1 мл-ге дейінгі плазма мен қан сарысуы үлгілерінен РНК/ДНҚ экстракциясын жүргізуге мүмкіндік беретін реагенттерді қолдану қажет.

Экстракция рәсімі автоматты станциялардың нұсқаулығына сәйкес, сондай-ақ мынадай шарттарды ескере отырып жүргізіледі:

- Бір сынамаға 10 мкл көлемінде экстракция басталғанға дейін үлгілерге немесе лизирлеуші ерітіндіге ІБҮ енгізу міндетті шарт болып табылады.
- Бірнеше түрлі зерттеулер жүргізу үшін үлгіні экстракциялау кезінде (HDV РНҚ, *HCV* РНҚ, *HGV* РНҚ, *HBV* ДНҚ, *АИТВ* РНҚ және *HCV*-генотиптеуді анықтау үшін нуклеин қышқылдарын бір мезгілде экстракциялауға жол беріледі) ІБҮ барлық талап етілетін препараттарын енгізу (ұқсас).
- Бағдарламаланатын элюция көлемі – 50-60 мкл (элюция көлемін 100 мкл дейін ұлғайтуға жол беріледі).
- NucliSENS easymag (BioMérieux, Франция) автоматты станциясын пайдалану кезінде «ЕМ-плюс» реагенттерінің қосымша жиынтығын (Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН өндірген) қолдану міндетті болып табылады.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7

қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Құрылғыда (*On-board*) және құрылғыдан тыс (*Off-board*) лизис режимдерін пайдалануға жолберіледі.

- д) ДНҚ экстракциясын аяқтағаннан кейін құрылғыдан пробиркаларды алып, амплификация реакциясын жүргізу керек. Тазартылған ДНҚ-ны 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 1 апта бойы сақтауға болады. Ұзақ мерзімді сақтау үшін препаратты жыл бойы минус 16 °С-ден жоғары емес температурада сақтау керек.

Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН С гепатитінің Р вирусын (*HCV*) «АмплиСенс® *HCV-FL*», D гепатиті вирусының РНҚ (*HDV*) «АмплиСенс® *HDV-FL*», G гепатиті вирусының РНҚ (*HGV*) «АмплиСенс® *HGV-FL*», В гепатиті вирусының ДНҚ (*HBV*) «АмплиСенс® *HBV-FL*» анықтауға арналған реагенттер жинағын қолдану бойынша әдістемелік нұсқауларын қараңыз.

«Нақты уақыт» режимінде детекциямен Амплификация жүргізу Реакция қоспасының жалпы көлемі – 25 мкл, оған қоса ДНҚ сынамасының көлемі – 10 мкл.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ДНҚ-мен жұмыс істегенде тек RNase-free, DNase-free арнайы таңбасы бар бір реттік стерильді пластик шығыс материалдарын пайдалану қажет.

А. Амплификация үшін пробиркалар дайындау Амплификацияға арналған пробирканы таңдау қолданылатын камплификаторға байланысты.

Пробиркаларға реагенттерді, ДНҚ сынамаларын және бақылау үлгілерін енгізу үшін сүзгілері бар бір реттік ұштықтар пайдаланылады.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Реакциялық қоспаның компоненттерін ПТР-зерттеу жүргізер алдында бірден араластыру керек. Зерттелетін және бақылау үлгілерін тестілеуді қамтитын реакциялардың қажетті санына есептелген реагенттерді араластыру **есептік кестеге** сәйкес болуы қажет (4-кестені қараңыз).

1. Жұмысты бастағанға дейін жинақтың барлық реагенттерін еріту, вортексте мұқият араластыру және пробирка қақпақтарынан тамшыларды тұндыру керек.
2. Зерттелетін, бақылау үлгілерінің санын (екі экстракция бақылауы, бір амплификация бақылауы) ескере отырып, амплификациялау пробиркасының қажетті санын іріктеп алу керек. Пробирка, стрип немесе плашкалар типін қолданылатын құрылғыға байланысты таңдаңыз.
3. **Реакциялық қоспаны дайындау үшін бөлек стерильді пробиркада реагенттерді 1 реакцияға: 10 мкл ПТР-қоспа-1-FL *HBV*, 5 мкл ПТР-қоспа-2-FRT және 0,5 мкл полимераза (*TaqF*) есебімен араластыру қажет.** Қоспаны вортекске мұқият араластырыңыз және пробирка қақпағынан тамшыларды тұндырыңыз.
4. Дайын 15 мкл реакциялық қоспаны пробиркаға салыңыз.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

5. Дайын пробиркаларға клиникалық үлгілерден бөлінген **10 мкл ДНҚ сынамасын** енгізу қажет.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! «РИБО-сорб», «МАГНО-сорб» және NucliSENS easyMAG реагенттері жиынтығының көмегімен бөлінген ДНҚ сынамаларын қосқан кезде сорбенттің реакциялық қоспаға түсуін болдырмау қажет.

6. Бақылау реакцияларын **қойыңыз:**

а) **экстракцияны оң бақылау – (ОБ)**– пробиркаға ОБҮ - 1-**HBV** үлгісінен бөлінген **ДНҚ сынамасының 10 мкл** енгізу керек.

б) **экстракцияны теріс бақылау (ОК)** – пробиркаға ТБҮ үлгісінен бөлінген **10 мкл ДНҚ сынамасын** енгізу керек.

в) **ПТР оң бақылау (Б+)** - пробиркаға **10 мкл KB2 HBV** енгізу керек.

Ықтимал контаминацияға күдік болған кезде ПТР (Б–) теріс бақылау қою қажет. Ол үшін дайын реакциялық қоспа тұрған пробиркаға элюцияға арналған **10 мкл буфер қосыңыз.**

4-кесте

FRT форматы үшін реакциялық қоспаларды дайындау сызбасы

		Бір үлгіге қоры бар зерттелетін нүктелердің көрсетілген санына реактивтер көлемі		
Бір реакцияға реагент көлемі (мкл)		10,00	5,00	0,50
Клиникалық үлгілер саны	Зерттелетін нүктелер саны ⁷	ПТР-қоспа-1-FL <i>HBV</i>	ПТР-қоспа-2- FRT	Полимераза (TaqF)
4	7	80	40	4,0
6 ⁸	9	100	50	5,0
8	11	120	60	6,0
10 ⁹	13	140	70	7,0
12	15	160	80	8,0
14 ¹⁰	17	180	90	9,0
16	19	200	100	10,0
18	21	220	110	11,0
20	23	240	120	12,0
22	25	260	130	13,0
34	37	380	190	19,0
46	49	500	250	25,0

⁷ Клиникалық үлгілердің саны + ДНҚ экстракциясы сатысын 2 бақылау + 1 ПТР бақылау (N+3, N –клиникалық үлгілер саны).

⁸ NucliSENS easyMAG құрылғысында бір стрип экстракциясы (8 пробирка).

⁹ Экстракцияға арналған 12 пробиркадан тұратын панель.

¹⁰ NucliSENS easyMAG құрылғысында екі стрип экстракциясы (6 пробирка).

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Б. «Нақты уақыт» режимінде детекциямен амплификация жүргізу

1. Пробиркаларды құрылғының реакциялық модуль ұяшығына орнату керек.
2. Флуоресцентті сигналдың тиісті амплификация және анықтау бағдарламасын орындау үшін құралды («нақты уақыт» режимінде детекция жүйесімен амплификаторды) бағдарламалаңыз (5,6-кестені қараңыз).

5-кесте

Ротор типті құралға арналған «АмплиСенс-2 RG» бағдарламасы¹¹

Кезең	Температура, °C	Уақыт	Флуоресценцияны өлшеу	Цикл саны
Hold/Температураны ұстау	50	15 мин	–	1
Hold/Температураны ұстау	95	15 мин	–	1
Cycling/Циклдеу	95	5 с	–	5
	60	20 с	–	
	72	15 с	–	
Cycling 2 / Циклдеу 2	95	5 с	–	40
	60	20 с	FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange, Cy5/Red	
	72	15 с	–	

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Осы бағдарламаны қолдана отырып, сіз бір уақытта бір құрылғыда бір бағдарлама бойынша тесттердің кез-келген біріктірілуін жасай аласыз (мысалы, *HDV*, *HCV* генотиптеу және т.б. үшін тесттермен бірге). Егер бір құрылғыда бір уақытта *HBV* ДНҚ анықтау үшін тесттер жүргізілсе, уақытты үнемдеу үшін осы бағдарламадан алғашқы қадамды (50 °C – 15 минут) алып тастауға болады.

Ескерту– қажет болса ROX/Orange және Cy5/Red каналдары, егер осы каналдар пайдаланылатын «мультипрайм» форматында тесттер жүргізілсе, қосылады.

6-кесте

Планшет типті құралға арналған «АмплиСенс-2 iQ» бағдарламасы¹²

Кезең	Температура, °C	Уақыт	Флуоресценцияны өлшеу	Цикл саны
-------	-----------------	-------	-----------------------	-----------

¹¹ Мысалы, Rotor-Gene 3000 немесе 6000 (Corbett Research, Австралия) және Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған реагенттер жинағын қолдану жөніндегі әдістемелік нұсқауларда.

¹² Мысалы, iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), Mx3000P (Stratagene, АҚШ), ДТ-96 («ДНК-Технология», Ресей) және реагенттер жинағын қолдану жөніндегі нұсқаулықта Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН ұсынған.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	5 с	–	5
	60	20 с	–	
	72	15 с	–	
4	95	5 с	–	40
	60	30 с	FAM, HEX, ROX, Cy5	
	72	15 с	–	

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Осы бағдарламаны қолдана отырып, сіз бір уақытта бір құрылғыда бір бағдарлама бойынша тесттердің кез-келген біріктірілуін жасай аласыз (мысалы, *HBV*, *HCV* генотиптеу және т.б. үшін тесттермен бірге). Егер бір құрылғыда бір уақытта *HBV* ДНҚ анықтау үшін тесттер жүргізілсе, уақытты үнемдеу үшін осы бағдарламадан алғашқы қадамды (50 °C – 15 минут) алып тастауға болады.

Ескерту– қажет болса ROX/Orange және Cy5/Red каналдары, егер осы каналдар пайдаланылатын «мультиплекс» форматында тесттер жүргізілсе, қосылады.

3. Бағдарламаны орындау аяқталғаннан кейін нәтижелерді талдауға және түсіндіруге кірісіңіз.

НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ ЖӘНЕ ТҮСІНДІРУ

Нәтижелерді талдау «нақыт уақыт» режимінде детекциямен ПТР жүргізу үшін қолданылатын құрылғының бағдарламалық жасақтамасын көмегімен жүзеге асырылады. Флуоресцентті сигналдың жинақталу қисықтарын екі канал бойынша талдаңыз:

- FAM флуорофоры үшін каналы бойынша ІБҮ ДНҚ амплификациясы өнімінің жинақталғанын растайтын сигнал тіркеледі,
- JOE флуорофоры үшін каналы бойынша *HBV* ДНҚ фрагменті амплификациясы өнімінің жинақталғанын растайтын сигнал тіркеледі;

Нәтижелер флуоресценция қисығының тиісті деңгейде белгіленген шекті сызықпен (логарифмдік шкалада оң бақылаудың флуоресценция өсімінің желілік учаскесінің ортасында белгіленеді) қиылысуының болуы (немесе болмауы) негізінде түсіндіріледі, бұл осы сынама үшін нәтижелер кестесіндегі тиісті бағанда *Ct* шекті цикл мәнінің болуын (немесе болмауын) айқындайды.

Канал бойынша амплификация нәтижесі, егер қисық флуоресценцияның дәйекті өсімі аумағындағы шекті сызықпен бір рет қиылысса, қисықтың шекті сызықпен қиылысу болмаған жағдайда *теріс* (*Ct* немесе *Ср* мәні жоқ) және барлық басқа жағдайларда *күмәнді* болса, *оң* деп саналады.

Нәтижелерді түсіндіру принципі келесідей:

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

- егер JOE/HEX/Yellow каналында көрсетілген (шекаралық) мәннен аспайтын **Сt** шекті циклінің мәні алынса, үлгі *HBV* ДНҚ құрамы бойынша *оң* болып саналады.
- егер JOE/HEX/Yellow каналында **Сt** мәні болмаса немесе көрсетілген (шекаралық) мәннен артық *Сt* мәні алынса, ал ІБҮ каналы бойынша ол үшін көрсетілген (шекаралық) мәннен аспайтын *Сt* шекті циклінің мәні айқындалса, үлгі *HBV* ДНҚ құрамы бойынша *теріс* болып саналады.
- каналдардың кез келгені бойынша күмәнді нәтиже алынған жағдайда үлгі **күмәнді** болып саналады. Тиісті үлгіні қайталап ПТР-зерттеу ұсынылады.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! *Сt* шекаралық мәндері ПТР-жиынтыққа қосымша парақта көрсетілген. «Нақты уақыт» режимінде ПРТ арналған тиісті құралдарға нұсқаулықты және Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН С гепатитінің Р вирусын (*HCV*) «АмплиСенс® *HCV-FL*», D гепатиті вирусының РНҚ (*HDV*) «АмплиСенс® *HDV-FL*», G гепатиті вирусының РНҚ (*HGV*) «АмплиСенс® *HGV-FL*», В гепатиті вирусының ДНҚ (*HBV*) «АмплиСенс® *HBV-FL*» анықтауға арналған реагенттер жинағын қолдану бойынша әдістемелік нұсқауларын қараңыз.

Егер бақылау реакцияларының нәтижелерін бағалау кестесіне сәйкес бақылау үлгілерінен өтудің дұрыс нәтижелері алынса, ПТР-зерттеу нәтижелері сенімді деп саналады (7-кестені қараңыз).

7-кесте

ПТР-зерттеудің әртүрлі кезеңдерін бақылауға арналған нәтижелер

Бақылау	ПТР-зерттеудің бақыланатын кезеңі	Канал бойынша амплификация нәтижесі	
		FAM/Green	JOE/Yellow
ТБ	ДНҚ экстракциясы, ПТР	оң	теріс
ОБ	ДНҚ экстракциясы, ПТР	оң	оң
Б+	ПТР	оң	оң
Б–	ПТР	теріс	теріс

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ!

1. Егер Hex/Yellow каналы бойынша экстракция кезеңін (Оң) оң бақылау немесе ПТР (б+) кезеңін оң бақылау үшін *Сt* мәні болмаса немесе көрсетілген (шекаралық) мәннен асып кетсе, ДНҚ экстракция кезеңінен бастап *HBV* ДНҚ табылмаған барлық үлгілер үшін ПТР-зерттеуді қайталау қажет.
2. Егер ДНҚ экстракциясын теріс бақылау (ТБ) және/немесе ПТР (Б–) теріс бақылау үшін Hex/Yellow каналы бойынша *Сt* мәні алынса, ДНҚ экстракция кезеңінен бастап *HBV* ДНҚ табылған барлық үлгілер үшін зерттеуді қайталау қажет.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Тестілеу процедурасы

1 ҚОСЫМША

«РИБО-преп» реагенттер жиынтығын пайдаланылған ДНҚ экстракциясы Жұмыс тәртібі.

1. **Лизиске арналған ерітінді** (егер ол 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақталса) 65 °С температурада кристалдар толығымен ерігенше қыздыру керек.
2. 1,5 мл бір реттік пробиркалардың қажетті санын іріктеп алу керек (экстракцияның теріс және оң бақылауын қоса). Пробиркаларды таңбалаңыз.
3. Әр пробирканың түбіне **10 мкл ІБҮ STI-87** енгізу қажет.
4. Пробиркаларға **лизиске арналған 300 мкл ерітінді** енгізу керек. Пробиркаларды таңбалаңыз.

Ескертпе – экстракция процедурасын жеңілдету үшін үлгілердің үлкен көлемі кезінде кейіннен қоспаны алдын ала дайындалған пробиркаларға 1,5 мл-ге 300 мкл-ден тарата отырып, **лизиске және ІБҮ арналған ерітіндіні** (бір үлгіге **300 мкл** лизиске арналған ерітінді және ІБҮ 10 мкл есебінен) бөлек стерильді құтыда араластыруға жол беріледі.

Бірнеше түрлі зерттеулер жүргізу үшін үлгіні экстракциялау кезінде (**HDV РНҚ, HCV РНҚ, HGV РНҚ, HBV ДНҚ, АИТВ РНҚ** және **HCV-генотиптеуді** анықтау үшін нуклеин қышқылдарын бір мезгілде экстракциялауға жол беріледі) ІБҮ барлық талап етілетін препараттарын енгізу (ұқсас).

5. Пробиркаларға **сүзгілері бар бір реттік ұштықтарды пайдалана отырып, 100 мкл зерттелетін үлгілерді** енгізуді керек. Қақпақтарды жауып, вортексте араластырыңыз. Қақпақтан сұйықтық тамшыларын ағызу үшін центрифугаға тұндырыңыз.
6. Әр панель үшін **оң экстракция бақылауын (ОБ) қою керек**. Ол үшін лизиске арналған ерітіндісі бар пробиркаға **90 мкл ТБҮ және 10 мкл ТБҮ-1 -HBV қосып**, вортексте араластырып, қақпақтан сұйықтық тамшыларын тұндырыңыз.
7. Әр панель үшін **теріс экстракция бақылауын (ТБ) қою керек**. Ол үшін лизис ерітіндісі бар пробиркаға **100 мкл ТБҮ қосыңыз**, вортексте араластырыңыз және қақпақтан сұйықтық тамшыларын тұндырыңыз.
8. Пробирка ішіндегісін **термостатта 65 °С температурада 5 минут қыздырып**, вортексте араластырып, қақпақтан сұйықтық тамшыларын тұндырыңыз.
9. Пробиркаларға **преципитация үшін 400 мкл ерітінді қосыңыз**, вортексте араластырыңыз.
10. Микроцентрифугадағы пробиркаларды 12 мың g кезінде (мысалы, MiniSpin, Eppendorf центрифугасы үшін 13 400 айн/мин) 5 мин ішінде центрифугалау керек.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

11. Шөгінді үсті сұйықтықты шөгіндіге тимей, вакуумды сорғышты және әрбір сынама үшін жеке ұштықты пайдалана отырып мұқият іріктеп алыңыз.
12. Түтіктерге **500 мкл жуу ерітіндісін қосыңыз 3**, қақпақтарды мықтап жабыңыз, түтіктерді 3-5 рет бұрап, тұнбаны абайлап шайыңыз.
13. Микроцентрифугада **1-2 минут ішінде 12 мың g болғанда** центрифугалау керек.
14. Шөгіндіні ұстамастан, абайлап, әр сынама үшін вакуум сорғыш пен жеке ұштықты пайдаланып, шөгінді үсті сұйықтықты іріктеп алыңыз.
15. Түтіктерге **200 мкл шаюға арналған ерітіндіні қосыңыз 4**, қақпақтарды мықтап жабыңыз және түтіктерді 3-5 рет бұрап, шөгіндіні ақырын шайыңыз.
16. Микроцентрифугада **2 минут ішінде 12 мың g болғанда** центрифугалау керек.
17. Шөгіндіні ұстамастан, абайлап, әр сынама үшін вакуум сорғыш пен жеке ұштықты пайдаланып, шөгінді үсті сұйықтықты іріктеп алыңыз.
18. Шөгіндіні құрғату үшін пробиркаларды термостатқа **65 °С температурада 5 мин** қойыңыз (бұл ретте пробирка қақпақтары ашық болуы тиіс).
19. Пробиркаларға **50 мкл РНҚ-буферді қосыңыз**. Вортесте араластырыңыз. Мезгіл-мезгіл вортесте шайқай отырып, **65 °С температурада 5 мин** термостатқа салыңыз.
20. Пробирканы микроцентрифугада **2 минут ішінде 12 мың g болғанда** центрифугалау керек. Шөгінді үсті сұйықтық құрамында тазартылған РНҚ мен ДНҚ бар. Сынамалар кері транскрипция реакциясын және ПТР қоюға дайын.

Тазартылған ДНҚ 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 1 апта ішінде дейін және минус 16 °С-ден аспайтын температурада бір жылға дейін сақтауға болады.

Медициналық маманмен алдын ала консультациясыз пайдаланушының медициналық шешімдер қабылдауына жол бермеу туралы ақпарат Босатылу шарттары. Емдеу-профилактикалық және санитариялық-профилактикалық мекемелер үшін.

«АмплиСенс® *HBV-FL*» реагенттер жинағының сапасына рекламация Роспотребнадзор эпидемиология ФЗИ ФБУН дайындаушы-кәсіпорнына жіберілсін (111123 Мәскеу қ., Новогиреевская к-сі, 3а) рекламациялармен жұмыс істеу бөлімі, e-mail: obtk@pcr.ru)¹³.

Қаптама заттаңбасындағы белгілерді түсіндіру



«АмплиСенс» өнімдері туралы пікірлер мен ұсыныстарды сіз сайтта тұтынушының сауалнамасын толтыру арқылы қалдыра аласыз: www.amplisens.ru.

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Каталог нөмірі



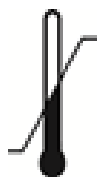
Партия коды



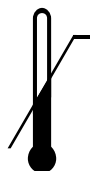
In vitro диагностикаға арналған медициналық бұйым



Өзгерту күні



Температуралық диапазон



Температуралық диапазонның жоғарғы шегі



Дайындаушы



Абайлаңыз! Қолдану жөніндегі нұсқаулықты қараңыз



Ішіндегісі n- санына тес жүргізу үшін жеткілікті



.... дейін қолданыңыз

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең



Қолдану жөніндегі нұсқаулықты қараңыз



Күн сәулесінің әсеріне жол бермеңіз



Дайындалған күні

Өндірушінің атауы, заңды (нақты) мекенжайы және байланыс деректері (телефон, факс, электрондық пошта):

Роспотребнадзор эпидемиология ҒЗИ ФБУН, Ресей

Заңды мекенжайы: Ресей, 111123, Мәскеу қ., Новогиреевская к-сі, 3А үй.

Ресей, 111123,

Нақты мекенжайы: Мәскеу қ., Новогиреевская к-сі, 3А үй.

Тел. (495) 672-10-69, факс (495) 305-54-23672-10-69

e-mail: crie@pcr.ru

Қазақстан Республикасының аумағындағы өндірушінің уәкілетті өкілінің атауы, заңды (нақты) мекенжайы және байланыс деректері (телефон, факс, электрондық пошта):

«МедЭксперт» ЖШС, Қазақстан;

Заңды мекенжайы: 050026 Алматы қ., Қарасай батыр к-сі 152/1, 5 қабат

Нақты мекенжайы: 050026 Алматы қ., Қарасай батыр к-сі, 152/1, 5 қабат

Телефон, факс, e-mail: 8 (727) 250 00 11, info@medexpert.kz

Қазақстан Республикасы аумағында тұтынушылардан медициналық бұйымның сапасына қатысты шағымдарды (ұсыныстарды) қабылдайтын ұйымның атауы және байланыс деректері (телефон, факс, электрондық пошта):

«МедЭксперт» ЖШС, Қазақстан;

Заңды мекенжайы: 050026 Алматы қ., Қарасай батыр к-сі 152/1, 5 қабат

Нақты мекенжайы: 050026 Алматы қ., Қарасай батыр к-сі, 152/1, 5 қабат

Телефон, факс, e-mail: 8 (727) 250 00 11, info@medexpert.kz

Медициналық қолдану жөніндегі нұсқаулықты соңғы қайта қарау

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):

Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электрондық құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

XX.XX.XXXX

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):
Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең

Шешімі: N052146

Шешім тіркелген күні: 18.05.2022

Мемлекеттік орган басшысының (немесе уәкілетті тұлғаның) тегі, аты, әкесінің аты (бар болса):
Байсеркин Б. С.

(Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитеті)

Осы құжат «Электронды құжат және электрондық цифрлы қол қою жөнінде» 2003 жылғы 7 қаңтардағы ҚРЗ 7-бабы 1-тармағына сәйкес қағаз түріндегі құжатқа тең