

Медициналық мақсаттағы бұйымды
медицинада қолдану жөніндегі нұсқаулық

Медициналық мақсаттағы бұйымның атауы

Биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағы «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL»

Бұйымның құрамы мен сипаттамасы

Тағайындалуы

«АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» реагенттер жинағы биологиялық материалда (мұрынжұтқыншақ және ауызжұтқыншақ жағындылары, қақырық, трахеядан шыққан аспираттар, БАЛ, бронхтың шайылған сулары, секциялық материал, вирус өсірінділері) амплификация өнімдерінің гибридизациялық-флуоресцентті детекциясымен ПТР әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! ПТР-зерттеудің нәтижелері ауруды кешенді диагностикалау кезінде ескеріледі.

Әдіс принципі

Гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарын анықтауға төрт кезең кіреді: РНҚ зерттелетін материал үлгілерін экстракциялау, кері транскрипция реакциясы, аталған вирустардың кДНҚ аумағын амплификациялау және гибридизациялық-флуоресцентті детекция, ол тікелей ПТР барысында (формат FRT) немесе ол аяқталғанда (формат FEP) жүреді.

РНҚ зерттелетін материалдан экстракциялау ішкі бақылау үлгісі (ІБҮ STI-rec) болғанда жүргізіледі, бұл әрбір үлгі үшін зерттеу емшарасын бақылауға мүмкіндік береді. Кері транскрипциялау реакциясы РНҚ матрицасында комплементарлы ДНҚ (кДНҚ) түзу мақсатында жүргізіледі. Сосын кДНҚ осы аумағына спецификалы праймерлердің және Таq-полимераза ферментінің көмегімен алынған кДНҚ сынамаларымен M Influenza virus A генінің және NS Influenza virus B генінің аумақтарына амплификациялау реакциясы жүргізіледі. Реакциялық қоспаның құрамында флуоресцентті-таңбаланған

олигонуклеотидты зонд болады, ол амплификацияланатын кДНК-нысананың комплементарлы аумағымен гибридтеледі, осының нәтижесінде флуоресценция қарқынының өсуі жүреді. Бұл флуоресцентті сигналдың қарқындылығын өлшеу жолымен амплификацияның спецификалық өнімінің жинақталуын тіркеуге мүмкіндік береді. FEP форматын пайдаланғанда флуоресцентті сигнал детекциясы флуоресцентті ПТР-детекторының көмегімен ПТР аяқталғаннан кейін, ал FRT форматын пайдаланғанда – тікелей «нақты уақыт» режимінде флуоресцентті сигнал детекциясы жүйесімен амплификатордың көмегімен ПТР барысында жүзеге асады.

Реагенттер жинағында «ыстық старт» қолданылады. «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығында FRT «ыстық старт» нұсқасы денатурация кезеңінде балқитын балауыз аспа реакциясы компоненттерінің бөлінуімен қамтамасыз етіледі. «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығында FRT-100 F «ыстық старт» нұсқасы химиялық тұрғыдан модификацияланған Taq-полимераза (TaqF) пайдаланумен қамтамасыз етіледі. Химиялық тұрғыдан модификацияланған полимераза 95 °C-де 15 мин ішінде реакциялық қоспа қызғанда белсенділенеді.

Талдамалық сипаттамалары

Талдамалық сезімталдығы

Биологиялық материал түрі	Қоздырғыш	РНҚ экстракциясына арналған жиынтық	Амплификацияға және детекцияға арналған жиынтық	Талдамалық сезімталдығы ¹ , ГЭ/мл
Мұрынжұтқыншақ және ауызжұтқыншақ жағындылары	А тұмауы вирусы (<i>Influenza virus A</i>)	РИБО-сорб, РИБО-преп, NucliSENS easyMAG	«ПТР-жиынтық» нұсқалары FRT, FRT-100 F, FEP	1x10 ³
	В тұмауы вирусы (<i>Influenza virus B</i>)	РИБО-сорб, РИБО-преп, NucliSENS easyMAG	«ПТР-жиынтық» нұсқалары FRT, FRT-100 F, FEP	1x10 ³

Талдамалық спецификалылығы

Реагенттер жинағы А тұмауы (*Influenza virus A*) В тұмауы вирусының (*Influenza virus B*) кДНК фрагменттерін анықтауға мүмкіндік береді. реагенттер жинағының спецификалық белсенділігі 1977 ж. 2011 ж. дейін РФ-да, Украина және Беларусь республикаларында белгіленген эпидемиялық А/Н1N1 және А/Н3N2 тұмауы вирустарының эталондық штамдары мен изоляттарын, жануарлардан бөлінген А тұмауы вирустарының (Н1N1, Н2N2, Н2N3, Н2N9, Н3N2, Н3N8, Н4N6, Н5N1, Н5N3, Н5N2, Н5N3, Н6N2, Н7N1, Н8N4, Н9N2, Н10N7, Н11N6, Н12N5, Н13N2), Ямагата және Виктория линияларында В тұмауы вирустарын, сондай-ақ А/Н1N1pdm2009 тұмауының пандемиялық вирусының А/California/07/2009 штаммын зерттегенде дәлелденген.

Басқа вирустық (адамның респираторлық-синцитиальді вирусы «Лонг» штаммы, адамның риновирустары (типтері 13, 15, 16, 17, 21, 26 және 29), герпес вирустары, цитомегаловирус, энтеровирустар (типтері Echo9, Echo30)) және бактериялық (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumonia*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella*

¹ Сезімталдығы қоздырғыштың геномды эквиваленттерінде (ГЭ) 1 мл сынамада айқындалады.

catarrhalis, Legionella pneumophila) ОРЗ қоздырғыштарының, мұрынжұтқыншақ пен ауызжұтқыншақтың микрофлорасының қДНҚ/ДНҚ және адам қДНҚ/ДНҚ қатысты, сондай-ақ мыналарды қамтитын клиникалық материалын зерттегенде жинақ компоненттерінің спецификалық емес реакцияларының жоқтығын көрсетті: респираторлық-синцитиальді вирустар (А және В типтері), парагриппи вирустары (1-4 типтері), адам коронавирустары ОС43, E229, NL63, НКUI, адам аденовирустары В, С және Е топтары, адам метапневмовирустары, адам бокавирусы.

Жинақтың құрамы

ҒЕР НҰСҚАСЫ

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы ҒЕР нұсқасы – «соңғы нүкте» бойынша гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен Influenza virus А және Influenza virus В қДНҚ амплификациялауға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ПТР-қоспа-1-FL <i>Influenza virus A/B</i> балауыз астына тамшылатқан	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,008	55 пробирка көлемі 0,5 немесе 0,2 мл
ПТР-қоспа-2-FL	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,77	1 пробирка
ПТР-қоспа-Фон	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	1 пробирка
ПТР ² арналған минералды май	Түссіз тұтқыр сұйықтық	4,0	1 құты
<i>Influenza virus A / Influenza virus B / STI қДНҚ ОБУ</i>	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	1 пробирка
ТЕ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	1 пробирка

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығына келесі реагенттері қоса ұсынылады:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ТБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	1 пробирка
ІБУ STI-rec	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,12	5 пробирок

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, амплификация бойынша 55 реакция жүргізуге есептелген.

«РИБО-сорб» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы – клиникалық материалдан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
Лизистейтін ерітінді	Мөлдір түссіз сұйықтық ³	22,5	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 1	Мөлдір түссіз сұйықтық ³	20	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 3	Мөлдір түссіз сұйықтық	50	1 құты

² Реагент амплификаторларды термостатталмайтын қақпақсыз қолданған кезде пайдаланылады (мысалы, «Терцик», «ДНҚ-Технология», Ресей).

³ Лизистейтін ерітіндіні, лизиске арналған ерітіндіні және шаюға арналған ерітіндіні-1 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақтау кезінде кристалдар түріндегі шөгінді түзілуі мүмкін.

Шаюға арналған ерітінді 4	Мөлдір түссіз сұйықтық	20	1 құты
Сорбент	Ақ түсті суспензия	1,25	1 пробирка
РНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	5 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, 50 сынамадан РНҚ бөліп алуға есептелген.

3 және 4 жиынтықталымдар формасының құрамына кіреді.

«РИБО-преп» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы – клиникалық материалдан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
Лизиске арналған ерітінді	Көгілдір түсті мөлдір сұйықтық ³	15	1 құты
Преципитацияға арналған ерітінді	Мөлдір түссіз сұйықтық	20	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 3	Мөлдір түссіз сұйықтық	25	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 4	Мөлдір түссіз сұйықтық	10	1 құты
РНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	4 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, 50 сынамадан РНҚ бөліп алуға есептелген.

5 және 6 жиынтықталымдар формасының құрамына кіреді.

«РЕВЕРТА-L» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы – РНҚ матрицасында кДНҚ алуға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
RT-G-mix-1	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,01	5 пробирка
RT-mix	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,125	5 пробирка
Ревертаза (MMIv)	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,03	1 пробирка
ДНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	1 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, кері транскрипция бойынша 60 реакция жүргізуге есептелген. 3, 4, 5, 6 жиынтықталымдар формасының құрамына кіреді.

FRT НҰСҚАСЫ

«ПТР-жиынтығы» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы – «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен Influenza virus A және Influenza virus B кДНҚ амплификациялауға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ПТР-қоспа-1-FL Influenza virus A/B балауыз астына тамшылатқан	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,008	55 пробирка көлемі 0,2 мл

ПТР-қоспа-2-FL	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,77	1 пробирка
Influenza virus A / Influenza virus B / STI кДНҚ ОБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	1 пробирка
ТЕ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	1 пробирка

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығына келесі реагенттері қоса ұсынылады:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ТБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	1 пробирка
ІБУ STI-rec	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,12	5 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, амплификация бойынша 55 реакция жүргізуге есептелген. 1, 3, 4 жиынтықталымдар формасының құрамына кіреді.

«ПТР-жиынтығы» реагенттер жиынтығы FRT-100 F нұсқасы – «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен Influenza virus A және Influenza virus B кДНҚ амплификациялауға арналған реагенттер жиынтығына – **мыналар кіреді:**

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ПТР-қоспа-1-FL-F Influenza virus A/B	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	5 пробирка
ПТР-қоспа-2-FRT	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,6	1 пробирка
Полимераза (TaqF)	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,06	1 пробирка
Influenza virus A / Influenza virus B / STI кДНҚ ОБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,2	1 пробирка
ТЕ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	1 пробирка

«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығына келесі реагенттері қоса ұсынылады:

Реактив	Сипаттамасы	Көлемі, мл	Мөлшері
ТБУ	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	2 пробирка
ІБУ STI-rec	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,12	10 пробирка

Реагенттер жиынтығы бақылауды қоса, амплификация бойынша 100 реакция жүргізуге есептелген. 2, 5, 6 жиынтықталымдар формасының құрамына кіреді.

«РИБО-сорб» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы немесе 100 нұсқасы – клиникалық материалдан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығына – **мыналар кіреді:**

Реактив	Сипаттамасы	50 нұсқа		100 нұсқа	
		Көлемі, мл	Мөлшері	Көлемі, мл	Мөлшері
Лизистейтін ерітінді	Мөлдір түссіз сұйықтық ⁴	22,5	1 құты	45	1 құты

⁴ Лизистейтін ерітіндіні, лизиске арналған ерітіндіні және шаюға арналған ерітіндіні-1 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақтау кезінде кристалдар түріндегі шөгінді түзілуі мүмкін

Шаюға арналған ерітінді 1	Мөлдір түссіз сұйықтық ⁵	20	1 құты	40	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 3	Мөлдір түссіз сұйықтық	50	1 құты	100	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 4	Мөлдір түссіз сұйықтық	20	1 құты	40	1 құты
Сорбент	Ақ түсті суспензия	1,25	1 пробирка	1,25	2 пробирка
РНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,5	5 пробирка	0,5	10 пробирка

Реагенттер жиынтығының 50 нұсқасы бақылауды қоса, 50 сынамадан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға есептелген. 3 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

Реагенттер жиынтығының 100 нұсқасы бақылауды қоса, 100 сынамадан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға есептелген. 5 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

«РИБО-преп» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы немесе 100 нұсқасы – клиникалық материалдан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығына – мыналар кіреді:

Реактив	Сипаттамасы	50 нұсқа		100 нұсқа	
		Көлемі, мл	Мөлшері	Көлемі, мл	Мөлшері
Лизиске арналған ерітінді	Көгілдір түсті мөлдір сұйықтық ⁵	15	1 құты	30	1 құты
Преципитацияға арналған ерітінді	Мөлдір түссіз сұйықтық	20	1 құты	40	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 3	Мөлдір түссіз сұйықтық	25	1 құты	50	1 құты
Шаюға арналған ерітінді 4	Мөлдір түссіз сұйықтық	10	1 құты	20	1 құты
РНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	4 пробирка	1,2	8 пробирка

Реагенттер жиынтығының 50 нұсқасы бақылауды қоса, 50 сынамадан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға есептелген. 4 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

Реагенттер жиынтығының 100 нұсқасы бақылауды қоса, 100 сынамадан РНҚ/ДНҚ бөліп алуға есептелген. 6 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

«РЕВЕРТА-L» реагенттер жиынтығы 50 нұсқасы немесе 100 нұсқасы – РНҚ матрицасында кДНҚ алуға арналған реагенттер жиынтығы – включает:

Реактив	Сипаттамасы	50 нұсқа		100 нұсқа	
		Көлемі, мл	Мөлшері	Көлемі, мл	Мөлшері
RT-G-mix-1	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,01	5 пробирка	0,01	10 пробирка
RT-mix	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,125	5 пробирка	0,125	10 пробирка
Ревертаза (MMIV)	Мөлдір түссіз сұйықтық	0,03	1 пробирка	0,06	1 пробирка
ДНҚ-буфер	Мөлдір түссіз сұйықтық	1,2	1 пробирка	1,2	2 пробирка

Реагенттер жиынтығының 50 нұсқасы бақылауды қоса, кері транскрипция бойынша 60 реакция жүргізуге есептелген. 3 және 4 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

Реагенттер жиынтығының 100 нұсқасы бақылауды қоса, кері транскрипция бойынша 120 реакция жүргізуге есептелген. 5 және 6 жиынтықталым формасының құрамына кіреді.

Қолданылу саласы

Клиникалық зертханалық диагностика.

Жиынтықталымы

«АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» реагенттер жинағы FER және FRT екі нұсқада келесі жиынтықталым формаларында шығарылады:

Жиынтықталым формалары	FER форматы	FRT форматы
Форма 1	«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы FER нұсқасы (0,5 мл пробиркалар)	«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы FRT нұсқасы
Форма 2	«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы FER нұсқасы (0,2 мл пробиркалар)	«ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығы FRT-100 F нұсқасы
Форма 3	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-сорб» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FER нұсқасы (0,5 мл пробиркалар)	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-сорб» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FRT нұсқасы
Форма 4	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-сорб» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FER нұсқасы (0,2 мл пробиркалар)	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-преп» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FRT нұсқасы
Форма 5	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-преп» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FER нұсқасы (0,5 мл пробиркалар)	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-сорб» 100 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 100 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FRT-100 F нұсқасы
Форма 6	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-преп» 50 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 50 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FER нұсқасы (0,2 мл пробиркалар)	Реагенттер жиынтығы: «РИБО-преп» 100 нұсқасы; «РЕВЕРТА-L» 100 нұсқасы; «ПТР-жиынтық» FRT -100 F нұсқасы
Форма 7	«АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» жинағының жиынтықталымына арналған көтерме саудалық реагенттер	«АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» жинағының жиынтықталымына арналған көтерме саудалық реагенттер

FER нұсқасы

1 және 2 жиынтықталым формалары «соңғы нүкте» бойынша гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен А тұмауы вирустарының

(Influenza virus A) және В тұмауы вирустарының (Influenza virus B) кДНК амплификация жүргізуге арналған. Толық ПТР-зерттеу жүргізу үшін РНҚ экстракциясын және Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған кері транскрипция реакциясын жүргізуге арналған реагенттер жиынтығын пайдалану қажет.

3, 4, 5 және 6 жиынтықталым формалары РНҚ экстракциясын, «соңғы нүкте» бойынша гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен А тұмауы вирустарының (Influenza virus A) және В тұмауы вирустарының (Influenza virus B) кДНК кері транскрипция реакция және амплификация жүргізуді қоса, толық ПТР-зерттеу жүргізуге арналған.

7 жиынтықталым формасы тапсырыс берушінің тілінде әрі қарай таңбалау және жинақтар бойынша жиынтықталым үшін өндірістік мақсаттарға арналған.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! 7 жиынтықталым формасы Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ бекіткен регламентке сәйкес қана пайдаланылады.

FRT нұсқасы

1 және 2 жиынтықталым формалары «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен А тұмауы вирустарының (Influenza virus A) және В тұмауы вирустарының (Influenza virus B) кДНК амплификация жүргізуге арналған. Толық ПТР-зерттеу жүргізу үшін РНҚ экстракциясын және Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған кері транскрипция реакциясын жүргізуге арналған реагенттер жиынтығын пайдалану қажет.

3, 4, 5 және 6 жиынтықталым формалары РНҚ экстракциясын, «нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен А тұмауы вирустарының (Influenza virus A) және В тұмауы вирустарының (Influenza virus B) кДНК кері транскрипция реакция және амплификация жүргізуді қоса, толық ПТР-зерттеу жүргізуге арналған.

7 жиынтықталым формасы тапсырыс берушінің тілінде әрі қарай таңбалау және жинақтар бойынша жиынтықталым үшін өндірістік мақсаттарға арналған.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! 7 жиынтықталым формасы Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ бекіткен регламентке сәйкес қана пайдаланылады.

Сақтандыру шаралары

Жұмыс СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділіктің (қауіптіліктің) III–IV топтарындағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі», СанЕмН 2.1.7.2790-10 «Медициналық қалдықтарды пайдалануға қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар» санитариялық-эпидемиялық ережелерін және ӘН 1.3.2569-09 «Құрамында патогенділіктің (қауіптіліктің) III–IV топтарындағы микроорганизмдер бар материалмен жұмыс істегенде нуклеин қышқылдарын амплификациялау әдістерін пайдаланытын зертханалардың жұмысын ұйымдастыру» әдістемелік нұсқауларын сақтай отырып, инфекциялық аурулардың қоздырғыштарына қатысты клиникалық материалды молекулярлық-биологиялық (ПТР) зерттеулерді орындайтын зертханада жүргізілуі тиіс.

Жұмыс істегенде әрқашан келесі талаптарды орындау керек:

- Зерттелетін үлгілерден инфекциялық тұрғыдан қауіпті деп қарастыру, СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділіктің (қауіптіліктің) III–IV топтарындағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі» сәйкес жұмысын және сақталуын ұйымдастыру керек.
- СЕ 1.3.2322-08 «Патогенділіктің (қауіптіліктің) III–IV топтарындағы микроорганизмдермен және паразиттік аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеу қауіпсіздігі» сәйкес дезинфекциялаушы құралдарды пайдалана отырып, құйылған үлгілер мен реактивтерді жинастыру және дезинфекциялау.
- зертханалық үдеріс бір бағытты болуы тиіс. Талдау бөлек бөлмелерде (аймақтарда) жүргізіледі. Жұмысты Белгілеу Аймағында бастау, Амплификация және Детекция Аймағында жалғастыру керек. Үлгілер, жабдықтар және реактивтер үдерістің алдыңғы сатысы жүргізілген аймаққа қайтарылмайды.
- Пайдаланылмаған реактивтерді, жарамдылық мерзімі өткен реактивтерді, сондай-ақ пайдаланылған реактивтерді СанЕмН 2.1.7.2790-10 «Медициналық қалдықтарды пайдалануға қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар» талаптарына сәйкес жою керек.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Қалдықтарды жою кезінде амплификациядан кейін (құрамында ПТР өнімдері бар пробиркалар) пробиркаларды ашуға және ішіндегісін шашыратуға жол берілмейді, өйткені бұл зертханалық аймақтың, жабдықтардың және реагенттердің ПТР өнімдерімен контаминациялануға әкелуі мүмкін.

- Әрбір операция кезінде автоматты дозаторларға арналған бір реттік ұштықтарды сүзгімен пайдалануға және ауыстыруға болмайды. Бір реттік пластик ыдысты (пробиркалар, ұштықтар) құрамында дезинфекциялайтын 0,2 % ерітінді ДП-2Т бар арнайы контейнерге тастау қажет.
- ПТР қойылымдары жүргізілетін үстел беткейлеріне, орынжайларға жұмыстар басталғанға дейін және одан кейін 30 мин бойы ультракүлгін сәуле тигізу қажет.
- Жинақты осы нұсқаулыққа сәйкес қатаң түрде тағайындалуы бойынша қолданады.
- Арнайы оқып-үйренген қызметкерлер ғана жинақпен жұмыс істей алады.
- Жарамдылық мерзімі өткенде жинақты пайдалануға болмайды.
- Үлгілермен және реактивтермен жұмыс істегенде бір реттік қолғап, зертханалық халат кию, көзді қорғау керек. Жұмыс аяқталғанда қолды мұқият жуады.
- Теріге, көзге және шырышты қабыққа тигізіп алмаңыз. Тигізіп алған жағдайда зақымданған жерді сумен жуыңыз және медициналық көмекке жүгініңіз.
- Материалдар қауіпсіздігінің парақтары (MSDS – material safety data sheet) сұраныс бойынша қолжетімді.

Қосымша материалдар мен жабдықтар

1. Мұрын қуысының және ауызжұтқыншақтың жағындыларын сақтауға арналған реагент – «Респираторлық жағындыларды сақтауға және

- тасымалдауға арналған транспорттық орта» (ТШ 9398-083-01897593-2009) немесе Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған басқалары.
2. Қақырық пен тұтқыр консистенция аспираттарын алдын ала дайындауға арналған реагент – «МУКОЛИЗИН» (ТШ 9398-159-01897593-2011) немесе Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған басқалары.
 3. Пластик аппликатордағы педиатриялық назофарингеальді велюр-тампон (516CS01, COPAN, Италия) – балалардың төменгі мұрын жолдары шырышынан жағынды алуға арналған зонд.
 4. Пластик аппликатордағы икемді назофарингеальді велюр-тампон (503CS01, COPAN, Италия) – ересектердің төменгі мұрын жолдары шырышынан жағынды алуға арналған зонд.
 5. Жеке қаптамадағы, стерильді зонд-тампон (полистирол, вискозадан жасалған тампонмен) (300202, Deltalab, Испания) – балалар мен ересектердің ауызжұтқыншағынан жағынды алуға арналған зонд (ересектердің төменгі мұрын жолдары шырышынан жағынды алу үшін пайдалануға болады).
 6. Натрий хлоридінің немесе 0,01 М калий-фосфатты буфердегі 0,9% ерітінді, рН 7,0 – секциялық материалды алдын ала дайындау үшін, сондай-ақ микроорганизмдер өсіріндісін зерттеген жағдайда.
 7. РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығы – «РИБО-сорб» (ТШ 9398-004-01897593-2008), «РИБО-преп» (ТШ 9398-071-01897593-2008) немесе Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған басқалары (1 және 2 жиынтықталым формалары үшін).

Зерттелетін үлгілерден РНҚ экстракциялау және РНҚ кері транскрипциялау реакциясын жүргізу

1. Ламинарлық бокс (мысалы, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарлық жүйелер», Ресей, биологиялық қауіпсіздік класы II тип А).
2. Центрифуга/вортекс.
3. Ауыспалы көлемдегі автоматты дозаторлардың жеке жинағы (мысалы, «Ленпипет», Ресей).
4. Бұрандалатын немесе тығыз жабылатын полипропиленнен жасалған бір реттік пробиркалар 1,5 мл (мысалы, Axugen, АҚШ).
5. Сүзгілі бір реттік ұштықтар 200 мкл дейін және 1000 мкл дейін (мысалы, Axugen, АҚШ).
6. Ауыспалы көлемдегі дозаторларға арналған бір реттік ұштықтар 200 мкл дейін және 1000 мкл дейін (мысалы, Axugen, АҚШ).
7. Пробиркаға арналған штативтер 1,5 мл (мысалы, «ИнтерЛабСервис», Ресей) және ұштықтар (мысалы, Axugen, АҚШ).
8. ДНҚ бөлінген сынамаларына арналған 2-ден 8 °С-ге дейінгі тоңазытқыш, минус 16 °С-ден аспайтын мұздатқыш камерасымен.
9. Жеке халат, қалпақшалар, аяқ киім және бір реттік қолғаптар МУ 1.3.2569-09 бойынша.
10. Дезинфекциялайтын ерітінді құйылған ыдыс.

«РИБО-сорб» (ТШ 9398-004-01897593-2008) немесе «РИБО-преп» (ТШ 9398-071-01897593-2008) РНҚ/ДНҚ бөліп алуға арналған реагенттер жиынтығын пайдаланғанда:

11. «Эппендорф» типті пробиркаға арналған термостат 25-тен 100 °С-ге дейін (мысалы, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Ресей).
12. «Эппендорф» типті пробиркаға арналған микроцентрифуга 12 мың g дейін.
13. Медициналық вакуумдық сорғыш, артық сұйықтықты шығаруға арналған қақпан-колбасымен.
14. Бір реттік ұштықтар 200 мкл.
15. Бір реттік құты 10-20 мл.

Нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған автоматты станцияларды пайдаланғанда:

16. РНҚ/ДНҚ экстракциялауға арналған автоматты станция (мысалы, NucliSENS easyMAG (bioMérieux, Франция)).
17. Автоматты станцияға арналған реактивтер мен шығын материалдар жинағы (мысалы NucliSENS easyMAG (NucliSens экстракциялауға арналған буфер 1, NucliSens экстракциялауға арналған буфер 2, NucliSens экстракциялауға арналған буфер 3, NucliSens лизиске арналған буфер, NucliSens магниттік силика) (bioMérieux, Франция))

«РЕВЕРТА-L» (ТШ 9398-005-01897593-2008) кері транскрипция реакциясын жүргізуге арналған реагенттер жиынтығын пайдаланғанда:

18. «Эппендорф» типті пробиркаға арналған термостат 25-тен 100 °С-ге дейін (мысалы, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Ресей).
19. Вортекс (мысалы, «ГЭТА-2», «Биоком», Ресей).
20. «Эппендорф» типті пробиркаға арналған микроцентрифуга 16 мың g (мысалы, MiniSpin, Eppendorf, Германия).
21. Полипропиленнен жасалған бір реттік пробиркалар көлемі 0,2 (0,5) мл (мысалы, Ахуген, АҚШ).
22. Ауыспалы көлемдегі дозаторларға арналған бір реттік ұштықтар, сүзгісімен 200 мкл дейін және 1000 мкл дейін (мысалы, Ахуген, АҚШ).
23. Ұштыққа арналған штативтер (мысалы, Ахуген, АҚШ) көлемі 0,2 (0,5) мл пробиркалар (мысалы, «ИнтерЛабСервис», Ресей).

ПТР және амплификация өнімдерінің гибридизациялық-флуоресцентті детекциясы

1. Абактериялық ауа ортасының боксы (ПТР-бокс) (мысалы, «БАВ-«Ламинар-с», «Ламинарлық жүйелер», Ресей).
2. Центрифуга/вортекс (мысалы, «ГЭТА-2», «Биоком», Ресей).
3. Ауыспалы көлемдегі автоматты дозаторлар (5-тен 20 мкл дейін, 20-дан 200 мкл дейін) (мысалы, «Ленпипет», Ресей).
4. Сүзгілі бір реттік ұштықтар 10, 100, 200 мкл дейін, штативтерде (мысалы, Ахуген, АҚШ).
5. Пробиркаға арналған штативтер көлемі 0,2 мл немесе 0,5 мл (пайдаланылатын реагенттер жиынтығына сәйкес) (мысалы, «ИнтерЛабСервис», Ресей).
6. кДНҚ белгіленген сынамаларына арналған 2-ден 8 °С-ге дейінгі тоңазытқыш, минус 16 °С-ден аспайтын мұздатқыш камерасымен.

7. Жеке халат, қалпақшалар, аяқ киім және бір реттік қолғаптар МУ 1.3.2569-09 бойынша.

8. Ұштықтарды тастайтын ыдыс.

«ПТР-жиынтық» FEP нұсқасымен жұмыс істегенде:

9. Бағдарламаланған амплификатор (мысалы, «Терцик» («ДНҚ-Технология», Ресей), Gradient Palm Cyclor (Corbett Research, Австралия), МахуGene (Axugen, АҚШ), GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, АҚШ)).

10. Флуоресцентті ПТР-детектор (мысалы, ALA-1/4 (BioSan, Латвия), «Джин» («ДНҚ-Технология», Ресей) және осы реагенттер жинағын қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған).

«ПТР-жиынтық» FRT нұсқасымен жұмыс істегенде:

11. Бағдарламаланған амплификатор, «нақты уақыт» режиміндегі флуоресцентті сигнал детекциясы жүйесімен: ротор типті (мысалы, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия)), планшет типті (мысалы, iCycler iQ5 (Bio-Rad, АҚШ), Mx3000P (Stratagene, АҚШ), «ДТ-96» («ДНҚ-Технология», Ресей), CFX96 (Bio-Rad, АҚШ)), SmartCycler II арнайы центрифугамен жиынтықта Mini-Spin (Cepheid, АҚШ) және осы реагенттер жинағын қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған).

12. ПТР арналған полипропиленнен жасалған бір реттік пробиркалар көлемі 0,2 мл немесе 0,1 мл – «ПТР-жиынтықпен» жұмыс істегенде FRT-100 F нұсқасы:

а) ПТР арналған жұқа қабырғалы пробиркалар көлемі 0,2 мл дөңгелек немесе жайпақ мөлдір қақпақпен – планшет типті құралды пайдаланғанда;

б) ПТР арналған жұқа қабырғалы пробиркалар көлемі 0,2 мл жайпақ қақпақпен (мысалы, Axugen, АҚШ) немесе Rotor-Gene бойынша ПТР арналған пробиркалар, көлемі 0,1 мл стриптерде 4 данадан, қақпақтармен (мысалы, Corbett Research, Австралия; Qiagen, Германия) – ротор типті құралды пайдаланғанда;

в) SmartCycler II құралына арналған арнайы реакциялық модульдер.

Зерттелетін материалды алу, тасымалдау және сақтау

Жұмысты бастар алдында Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген «ПТР-диагностикаға арналған клиникалық материалды алу, тасымалдау, сақтау» әдістемелік ұсынымдарымен танысу керек, Мәскеу, 2008 ж.

Зерттеу үшін материал ретінде:

- мұрынжұтқыншақ шырышының (төменгі мұрын жолы) және артқы ауызжұтқыншақ қабырғасының жағындысы,
- қақырық (не трахеядан шыққан аспираттар),
- бронхо-альвеолярлық лаваж немесе бронхтардың ағын сулары,
- секциялық материал (зақымданған өкпе, бронх бөлімдерінің фрагменттері),
- вирус өсірінділері.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Мұрынжұтқыншақ пен ауызжұтқыншақ шырышының жағындысын бір пробиркада біріктіру және бір үлгі ретінде зерттеу ұсынылады. Бұл үшін басында төменгі мұрын жолының, сосын ауызжұтқыншақтың шырышынан әр түрлі зондтармен жағынды алады, бұл ретте зондтардың жұмыс істейтін ұштары пациенттен жағынды алғаннан кейін респираторлық жағындыларды сақтауға және тасымалдауға арналған транспорттық ортаның 0,5 мл-мен бір пробиркаға орналасады және бір үлгі ретінде зерттеледі.

Төменгі мұрын жолы шырышынан жағынды алу

Егер мұрын қуысы шырышқа толып кетсе емшара алдында сінбіріп тастау ұсынылады. Балалар мен ересектерден жағындыны пластик аппликатордағы құрғақ стерильді назофарингеальді велюр-тампонмен алады. Зондты төменгі жарғаққа дейін 2-3 см тереңдікке сыртқы мұрын жақтауында жеңіл қимылмен енгізеді, баяу төмен түсіреді, мұрынжұтқыншаққа дейін астыңғы мұрын жарғақшасының астынан төменгі мұрын жолына енгізеді, айналмалы қозғалыс жасайды және сыртқы мұрын жақтауының жанымен алып тастайды. Зондты енгізудің жалпы тереңдігі танаудан құлақ саңылауына дейінгі аралықтың шамамен жартысын құрауы тиіс (балалар үшін 3-4 см және ересектер үшін 5-6 см). Материалды алғаннан кейін тампонмен зондтың ұшын респираторлық жағындыларды сақтауға және тасымалдауға арналған транспорттық ортаның 500 мкл-мен сынған орынға дейін стерильді бір реттік пробиркаға жібереді, бұл ретте зондтың икемді бөлігі спиральмен бұрылады, әрі қарай, зондтың үстіңгі бөлігінің толық сынуына қол жеткізіп, пробирканы үстінен қақпақпен жауып тұрып зонд тұтқасын төмен түсіреді. Пробирканы тығыздап жабады және таңбалайды.

Ересектерден жағынды алу үшін вискозалық тампондары бар полистиролдан жасалған құрғақ стерильді зондтар пайдалануға болады. Зондты төменгі жарғаққа дейін 2-3 см тереңдікке сыртқы мұрын жақтауында жеңіл қимылмен енгізеді, баяу төмен түсіреді, мұрынжұтқыншаққа дейін астыңғы мұрын жарғақшасының астынан төменгі мұрын жолына енгізеді, айналмалы қозғалыс жасайды және сыртқы мұрын жақтауының жанымен алып тастайды. Зондты енгізудің жалпы тереңдігі танаудан құлақ саңылауына дейінгі аралықтың шамамен жартысын құрауы тиіс (5-6 см). Материалды алғаннан кейін тампонды (вискозалық тампоны бар зондтың жұмыс істейтін бөлігі) респираторлық жағындыларды сақтауға және тасымалдауға арналған транспорттық ортаның 0,5 мл-мен пробиркаға орналастырады. Зондтың ұшын ол пробирканы тығыз жауып тұратындай есеппен пробирканың қақпағын ұстап тұрып сындырады. Ерітіндімен және зондтың жұмыс істейтін бөлігімен жабады және таңбалайды.

Ауызжұтқыншақтан жағынды алу

Ауызжұтқыншақтан жағындыны бадамша без, таңдай доғасы және ауызжұтқыншақтың артқы жақтаулары беткейінен айналмалы қозғалыстармен вискозалық тампондары бар құрғақ стерильді зондтармен алады.

Материалды алғаннан кейін тампонды (вискозалық тампоны бар зондтың жұмыс істейтін бөлігі) транспорттық ортаның 0,5 мл-мен және

мұрынжұтқыншақтың жағындысы бар зондпен пробиркаға орналастырады. Зондтың ұшын ол пробирканы тығыз жауып тұратындай есеппен пробирканың қақпағын ұстап тұрып сындырады. Ерітіндімен және зондтың жұмыс істейтін бөлігімен жабады және таңбалайды.

2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 3 тәулік ішінде немесе минус 16 °С-ден аспайтын температурада 1 апта ішінде зерттеу жүргізгенге дейін материалды сақтауға жол беріледі.

Қақырық немесе трахеядан шыққан аспират

Қақырықты ауыз қуысын сумен алдын ала шайғаннан кейін стерильді герметикалық бір реттік пластик контейнерлерге жинайды. Трахеядан шыққан аспираттарды дәстүрлі тәсілмен алады және стерильді герметикалық бір реттік пластик контейнерлерге салады. 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 1 тәулік ішінде немесе минус 16 °С-ден аспайтын температурада 1 апта ішінде зерттеу жүргізгенге дейін сақтауға жол беріледі.

Бронхо-альвеолярлық лаважды немесе бронхтардың ағын суларын

полипропиленнен жасалған бір реттік тығыз бұрандалатын көлемі 5 мл кем емес ыдысқа жинайды. 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 1 тәулік ішінде немесе минус 16 °С-ден аспайтын температурада 1 апта ішінде зерттеу жүргізгенге дейін сақтауға жол беріледі.

Секциялық материалды стерильді бір реттік контейнерлерге салады және 1 сағат ішінде зерттейді не алғаннан кейін бірден қатырады. Минус 16 °С-ден аспайтын температурада 7 тәулік ішінде зерттеу жүргізгенге дейін сақтауға жол беріледі. 68 °С-ден аспайтын температурада бір жыл ішінде материалды әрі қарай сақтауға болады. Материалды бір рет қатыру-жібітуге жол беріледі.

Зерттелетін материалды РНҚ экстракциясына дайындау

Сынамаларды дайындаумен байланысты барлық манипуляциялар ауыспалы көлемдегі дозаторлар, 1,5 мл бір реттік полипропилен пробиркалар, сүзгілі ұштықтар және «Сақтандыру шаралары» бөлімінде тізілген құжаттарға сәйкес басқа материалдар пайдаланумен жүргізіледі.

Мұрынжұтқыншақ пен ауызжұтқыншақ шырышының жағындылары.

Жабық пробирканың ішіндегісін вортексте араластыру және пробирка қақпағының ішкі беткейінен тамшыларды жоятын микроцентрифугада 5 мың айн/мин болғанда 5 сек ішінде центрифугалау керек. РНҚ экстракциясы үшін 100 мкл үлгі алады.

Қақырық немесе трахеядан шыққан аспират. Консистенциясы бойынша тұтқыр қақырықты «МУКОЛИЗИН» реагентіне нұсқаулық бойынша тұтқырлығын төмендету мақсатында өңдеу керек. Дайындалған қақырықты (100 мкл) РНҚ экстракциясы үшін пайдаланады. Қайта талдау жүргізу қажет болғанда қақырықтың қалдығын қатырып тастайды.

Бронхо-альвеолярлық лаваж немесе бронхтардың ағын сулары. Үлгіні бастапқы ыдыста аудару арқылы араластырады. Сүзгілі ұштықты пайдаланып автоматты дозатормен 1 мл үлгі алады және 10 мин ішінде 10 айн/мин болғанда центрифуга жүргізуге арналған көлемі 1,5 мл пробиркаға аударылады. Артық сұйықтықты сүзгілі ұштық пайдаланып мұқият алады, шөгіндіде 200 мкл сұйықтық қалдырады, онда шөгіндіні ресуспензиялайды. Алынған суспензияны

(100 мкл) РНҚ экстракциясы үшін пайдаланады. Қайта талдау жүргізу қажет болғанда қақырықтың қалдығын қатырып тастайды.

Секциялық материалды стерильді фарфор үккіштер мен ұнтақтағыштар пайдалану арқылы гомогендейді, сосын стерильді физиологиялық ерітіндіде немесе фосфатты буферде 10 % суспензия дайындайды. Суспензияны 1,5 мл-ге пробиркаға ауыстырады және 5 мин ішінде 10 айн/мин болғанда центрифугалайды. Артық сұйықтықты (100 мкл) РНҚ экстракциясы үшін пайдаланады. Қайта талдау жүргізу қажет болғанда қақырықтың қалдығын қатырып тастайды.

Вирус өсірінділерін алдын ала дайындықсыз пайдаланады, РНҚ экстракциясы үшін 10 мкл өсірінді сұйықтығын пайдаланады.

FER нұсқасы

ПТР-зерттеу жүргізу

ПТР-зерттеу келесі кезеңдерден тұрады:

- РНҚ зерттелетін үлгілерден экстракциялау.
- Кері транскрипция.
- Амплификация.
- «Соңғы нүкте» бойынша амплификация өнімдерін флуоресцентті детекция.
- Нәтижелердің интерпретациясы.

Пайдаланатын жабдыққа қарамастан ПТР-зерттеу жүргізу емшарасы бойынша егжей-тегжей ақпарат Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда баяндалған.

РНҚ зерттелетін үлгілерден экстракциялау және РНҚ кері транскрипциялау реакциясын жүргізу

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! РНҚ жұмыс істеу үшін арнайы RNase-free, DNase-free таңбалары бар бір реттік стерильді пластик шығын материалдарын пайдалану қажет.

РНҚ экстракциясы үшін Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған реагенттер жиынтығы/автоматты станциялар пайдаланылады:

- «**РИБО-сорб**» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, А бөлімі.
- «**РИБО-преп**» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, Б бөлімі.
- нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған **NucliSENS easyMAG** (BioMérieux, Франция) автоматты станцияларын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, В бөлімі.

Әрбір зерттелетін үлгіден РНҚ экстракциялау ішкі бақылау үлгісі (**ІБҮ STI-rec**) болғанда жүргізіледі.

Кері транскрипциялау реакциясын жүргізу үшін Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған «РЕВЕРТА-L» реагенттер жиынтығы пайдаланылады. Аталған реагенттер жиынтығымен жұмыс істеу тәртібін 2-қосымшадан қараңыз.

Амплификация жүргізу

Амплификация үшін пробирка таңдау пайдаланылатын амплификаторға байланысты.

Пробиркаларға реагенттер, кДНК сынамаларын және бақылау үлгілерін енгізу үшін сүзгілі бір реттік ұштықтар пайдаланылады.

А. Амплификация үшін пробиркалар дайындау

Реакциялық қоспаның жалпы көлемі– 25 мкл, кДНК сынамасының көлемін қоса – 10 мкл.

1. Зерттелетін және бақылау сынамаларының кДНК амплификациялау үшін *Influenza virus A/B ПТР-қоспа-1-FL* салынған пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады. Балауыз пробирканың түбіндегі ерітіндіні толық жабатынына көз жеткізу керек.
2. Балауыздың беткейіне **7 мкл ПТР-қоспа-2-FL** енгізеді, бұл ретте ол балауыздың астында бүлінбеуі және *Influenza virus A/B ПТР-қоспамен-1-FL* араласып кетпеуі тиіс.
3. Үстінен **ПТР арналған минералды майдың тамшысын** қосады (термостатталмайтын қақпақсыз амплификатор пайдаланғанда).
4. 2 үлгі «Фон» дайындайды. Бұл үшін *Influenza virus A/B ПТР-қоспа-1-FL* бар екі пробиркаға суыған балауыз беткейіне **17 мкл ПТР-қоспа-Фон** енгізеді, бұл ретте ол балауыздың астында бүлінбеуі және *Influenza virus A/B ПТР-қоспа-1-FL* араласып кетпеуі тиіс. Үстінен **ПТР арналған минералды майдың тамшысын** қосады.
5. Дайындалған пробиркаларға **РНҚ кері транскрипция реакциясында алынған 10 мкл кДНК сынамаларын** енгізеді.
6. Бақылау реакцияларын қойыңыз:
 - а) **ПТР теріс бақылау (Б–)** – пробиркаға **10 мкл ТЕ-буфер** енгізеді.
 - б) **ПТР оң бақылау (Б+)** – пробиркаға *Influenza virus A / Influenza virus B / STI 10 мкл ОБУ кДНК* енгізеді.
 - в) **экстракцияны теріс бақылау (В–)** – пробиркаға **В–** үлгісінен бөлініп шыққан **10 мкл** сынаманы енгізеді.

Амплификаторға қою алдында центрифугада/вортексте қысқа центрифугалаумен (1-3 с) пробирка жақтауларынан тамшыларды шөгінділеу ұсынылады.

Б. Амплификация жүргізу

1. Амплификаторда тиісті термоциклдеу/ амплификация бағдарламасын іске қосыңыз (1-кестені қараңыз).
2. Ұяшықтардағы температура **95 °С-ге** (үзіліс режимі) жеткенде пробиркаларды амплификатор ұяшықтарына қояды және бағдарламаны жалғастыру тетігін басады.

Influenza virus A/B кДНК амплификациялау бағдарламасы

		Амплификатор, белсенді реттеуімен (пробиркадағы ерітінді бойынша):							
		«Терцик»		GeneAmp PCR System 2700, Gradient Palm Cyclер, MyCycler, MaxyGene			Uno-2, Biometra		
Цикл	Температура, °С	Уақыт	Циклдер саны	Температура, °С	Уақыт	Циклдер саны	Температура, °С	Уақыт	Циклдер саны
0	95 °С	пауза		95 °С	пауза		95 °С	пауза	
1	95 °С	5 мин	1	95 °С	5 мин	1	95 °С	5 мин	1
2	95 °С	10 с	42	95 °С	10 с	42	95 °С	25 с	42
	54 °С	20 с		54 °С	25 с		54 °С	40 с	
	72 °С	10 с		72 °С	25 с		72 °С	25 с	
3	72 °С	1 мин	1	72 °С	1 мин	1	72 °С	1 мин	1
4	10 °С	сақтау		10 °С	сақтау		10 °С	Сақтау	

Ескертпе – Амплификатордың басқа модельдеріне арналған амплификациялау бағдарламалары Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (*Influenza virus A*) және В тұмауы (*Influenza virus B*) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда баяндалған.

3. Бағдарламаны орындау аяқталғанда флуоресцентті детекцияға кіріседі.

«Соңғы нүкте» бойынша амплификация өнімдерінің флуоресцентті детекциясы

Детекция флуоресцентті ПТР-детектордың көмегімен (пайдаланылатын құралдың нұсқаулығына сәйкес) үш канал бойынша флуоресцентті сигналдың қарқындылығын өлшеу жолымен жүргізіледі:

- FAM (немесе құрал моделіне байланысты баламалы) каналы бойынша ІБҮ кДНК амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.
- HEX (немесе құрал моделіне байланысты баламалы) каналы бойынша В тұмауы (*Influenza virus B*) вирусының кДНК фрагменті амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.
- ROX (немесе құрал моделіне байланысты баламалы) каналы бойынша А тұмауы (*Influenza virus A*) вирусының кДНК фрагменті амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Детекция жүргізгенге дейін ПТР-детектордың бағдарламалық жасақтамасына тиісті реттеулер енгізілуі және сақталуы тиіс – ПТР-жиынтыққа қосымшаны, сондай-ақ Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (*Influenza virus A*) және В тұмауы (*Influenza virus B*) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарды қараңыз.

Нәтижелерді интерпретациялау

Алынған нәтижелер бақылау үлгілері мен зерттелетін үлгіден бөлініп шыққан кДНҚ сынамалары үшін тиісті каналдар бойынша фонға қатысты флуоресцентті сигналдың деңгейі туралы деректер негізінде интерпретацияланады. Интерпретация пайдаланылатын құралдың бағдарламалық жасақтаманың көмегімен автоматты түрде жүргізіледі. Нәтижелерді интерпретациялау принципі төмендегідей:

- егер аталған сынама үшін ROX каналы бойынша сигнал оң нәтиженің белгіленген шектік мәнінен артық болса *Influenza virus A* РНҚ **анықталады**.
- егер аталған сынама үшін HEX каналы бойынша сигнал оң нәтиженің белгіленген шектік мәнінен артық болса *Influenza virus B* РНҚ **анықталады**.
- егер аталған сынама үшін ROX каналы бойынша сигнал теріс нәтиженің белгіленген шектік мәнінен төмен болса, ал FAM бойынша канал белгіленген шектік мәнінен артық болса *Influenza virus A* РНҚ **анықталмайды**.
- егер аталған сынама үшін HEX каналы бойынша сигнал теріс нәтиженің белгіленген шектік мәнінен төмен болса, ал FAM бойынша канал белгіленген шектік мәнінен артық болса *Influenza virus B* РНҚ **анықталмайды**.
- егер аталған сынама үшін HEX және ROX каналы бойынша сигнал теріс нәтиженің белгіленген шектік мәнінен төмен болса және FAM бойынша канал белгіленген шектік мәнінен төмен болса талдау нәтижесі **нақты емес**. Бұл жағдайда РНҚ экстракциясы кезеңінен тиісті үлгідегі ПТР-зерттеуді қайталау талап етіледі. Нәтижелерді қайталау кезінде талдау үшін материалды қайта жинауды ұсыну керек. «Б→» үлгісі үшін барлық канал бойынша теріс нәтиже қалыпты болып табылады.
- егер аталған сынама үшін HEX және ROX каналы бойынша сигнал теріс нәтиженің белгіленген шектік мәнінен жоғары, бірақ оң нәтиженің шектік мәнінен төмен болса (сигнал шектік мәндер арасында болса) талдау нәтижесі **күдікті**. Бұл жағдайда РНҚ экстракциясы кезеңінен бастап тиісті үлгідегі ПТР-зерттеуді қайталау талап етіледі. Нәтижелер қайталанғанда үлгі оң болып есептеледі.

Егер амплификацияның оң және теріс бақылаулары үшін және 2-кестеге сәйкес РНҚ экстракциясының теріс бақылауы үшін дұрыс нәтижелер алынса ПТР-зерттеудің нәтижесі дұрыс деп есептеледі.

ПТР-зерттеудің түрлі кезеңдерінің бақылауларына арналған нәтижелер

Бақылау	ПТР-зерттеудің бақыланатын кезеңі	Канал бойынша сигнал			Кейбір детекторлардың бағдарламаларындағы нәтиженің белгіленуі
		FAM	HEX	ROX	
В-	РНҚ экстракциясы	Шектік мәннен <u>жоғары</u>	Теріс нәтиженің шектік мәнінен <u>төмен</u>	Теріс нәтиженің шектік мәнінен <u>төмен</u>	«-» немесе «ОК»
Б-	ПТР	Теріс нәтиженің шектік мәнінен <u>төмен</u>	Теріс нәтиженің шектік мәнінен <u>төмен</u>	Теріс нәтиженің шектік мәнінен <u>төмен</u>	«де» немесе «ОК»
Б+	ПТР	Шектік мәннен <u>жоғары</u>	Оң нәтиженің шектік мәнінен <u>жоғары</u>	Оң нәтиженің шектік мәнінен <u>жоғары</u>	«+» немесе «ОК»

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ!

- Егер ПТР (Б+) оң бақылауы үшін **HEX және ROX** каналы бойынша сигнал оң нәтиженің шектік мәнінен төмен болса осы флуорофорға сай келетін тұмау вирусының РНҚ анықталмаған барлық үлгілер үшін амплификацияны және детекцияны қайталау қажет.
- Егер ПТР (Б-) теріс бақылауы үшін **HEX және ROX** каналы бойынша сигнал оң нәтиженің шектік мәнінен жоғары болса РНҚ экстракциясы кезеңінен бастап осы флуорофорға сай келетін тұмау вирусының РНҚ анықталмаған барлық үлгілер үшін амплификацияны және детекцияны қайталау қажет.

FRT нұсқасы**ПТР-зерттеу жүргізу**

ПТР-зерттеу келесі кезеңдерден тұрады:

- РНҚ зерттелетін үлгілерден экстракциялау.
- Кері транскрипция.
- «Нақты уақыт» режимінде гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен амплификациялау.
- Нәтижелерді талдау және интерпретациялау.

Пайдаланатын жабдыққа қарамастан ПТР-зерттеу жүргізу емшарасы бойынша егжей-тегжей ақпарат Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL»

колдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда баяндалған.

РНҚ зерттелетін үлгілерден экстракциялау және РНҚ кері транскрипциялау реакциясын жүргізу

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! РНҚ жұмыс істеу үшін арнайы RNase-free, DNase-free таңбалары бар бір реттік стерильді пластик шығын материалдарын пайдалану қажет.

РНҚ экстракциясы үшін Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған реагенттер жиынтығы/автоматты станциялар пайдаланылады:

- «**РИБО-сорб**» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, А бөлімі.
- «**РИБО-преп**» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, Б бөлімі.
- нуклеин қышқылдарын экстракциялауға арналған **NucliSENS easyMAG** (BioMerieux, Франция) автоматты станцияларын пайдаланғанда жұмыс тәртібін «РНҚ сынамалардан экстракциялау» 1-қосымшадан қараңыз, В бөлімі.

Әрбір зерттелетін үлгіден РНҚ экстракциялау ішкі бақылау үлгісі (**ІБҮ STI-rec**) болғанда жүргізіледі.

Кері транскрипциялау реакциясын жүргізу үшін Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған «**РЕВЕРТА-L**» реагенттер жиынтығы пайдаланылады. Аталған реагенттер жиынтығымен жұмыс істеу тәртібін 2-қосымшадан қараңыз.

Амплификацияны «нақты уақыт» режиміндегі детекциямен жүргізу

Амплификация үшін пробиркаларды таңдау «нақты уақыт» режиміндегі детекция жүйесі бар пайдаланылатын амплификаторға байланысты.

Пробиркаларға реагенттер, қДНҚ сынамаларын және бақылау үлгілерін енгізу үшін сүзгілі бір реттік ұштықтар пайдаланылады.

А. Амплификация үшін пробиркалар дайындау

А1. «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығының FRT нұсқасы көмегімен амплификация жүргізу үшін пробиркалар дайындау

Реакциялық қоспаның жалпы көлемі– 25 мкл, қДНҚ сынамасының көлемін қоса – 10 мкл.

1. Зерттелетін және бақылау сынамаларының қДНҚ амплификациялау үшін *Influenza virus A/B ПТР-қоспа-1-FL* салынған пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады. Балауыз пробирканың түбіндегі ерітіндіні толық жабатынына көз жеткізу керек.
2. Балауыздың беткейіне **7 мкл ПТР-қоспа-2-FL** енгізеді, бұл ретте ол балауыздың астында бүлінбеуі және *Influenza virus A/B ПТР-қоспамен-1-FL* араласып кетпеуі тиіс.
3. Дайындалған пробиркаларға РНҚ кері транскрипция реакциясында алынған **10 мкл қДНҚ сынамаларын** енгізеді.
 - а) Бақылау реакцияларын қойыңыз:

- б) ПТР теріс бақылау (Б–) – пробиркаға 10 мкл ТЕ-буфер енгізеді.
 - в) ПТР оң бақылау (Б+) – пробиркаға *Influenza virus A / Influenza virus B / STI* 10 мкл ОБУ қДНҚ енгізеді.
4. экстракцияны теріс бақылау (Ба–) – пробиркаға Ба– үлгісінен бөлініп шыққан 10 мкл сынаманы енгізеді.

А2. «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығының FRT-100 F нұсқасы көмегімен амплификация жүргізу үшін пробиркалар дайындау
Реакциялық қоспаның жалпы көлемі – 25 мкл, қДНҚ сынамасының көлемін қоса – 10 мкл.

1. *Influenza virus A/B* ПТР-қоспасы-1-FL-F бар пробиркалардың қажетті мөлшерін қатырыңыз. *Influenza virus A/B* ПТР-қоспасы-1-FL-F, ПТР-қоспасы-2-FRT және полимеразасы (TaqF) бар пробиркалардың ішіндегісін араластырады және центрифуганын/вортекстің көмегімен қысқамерзімді центрифугалаумен (1-2 с) тамшыларды шөгінділейді.
2. Зерттелетін және бақылау сынамаларының қДНҚ амплификациясы үшін пробиркалар мен стриптердің қажетті мөлшерін іріктеп алады.
3. N реакциялар жүргізу үшін жеке пробиркада $10 \cdot (N+1)$ мкл *Influenza virus A/B* ПТР-қоспасы-1-FL-F, $5 \cdot (N+1)$ мкл ПТР-қоспасы-2-FRT және $0,5 \cdot (N+1)$ мкл полимеразаны (TaqF) араластырады. (Реакциялық қоспаларды дайындаудың есептік кестесін 3-қосымшадан қараңыз).
4. Дайындалған қоспаны вортексте араластырады және центрифуганын/вортекстің көмегімен қысқамерзімді центрифугалаумен тамшыларды шөгінділейді.
5. Әрбір пробиркаға 15 мкл дайындалған қоспаны енгізеді.
6. Дайындалған пробиркаларға РНҚ кері транскрипция реакциясында алынған 10 мкл қДНҚ сынамаларын енгізеді.
7. Бақылау реакцияларын қойыңыз:
 - а) ПТР теріс бақылау (Б–) – пробиркаға 10 мкл ТЕ-буфер енгізеді.
 - б) ПТР оң бақылау (Б+) – пробиркаға *Influenza virus A / Influenza virus B / STI* 10 мкл ОБУ қДНҚ енгізеді.
 - в) экстракцияны теріс бақылау (Ба–) – пробиркаға Ба– үлгісінен бөлініп шыққан 10 мкл сынаманы енгізеді.

Б. Амплификацияны «нақты уақыт» режиміндегі детекциямен жүргізу

1. Флуоресцентті сигналды амплификациялау мен детекциялаудың тиісті бағдарламасын орындау үшін құралды («нақты уақыт» режиміндегі детекция жүйесі бар амплификатор) бағдарламалау керек (3а және 3б кестелерін қар.).

Ротор және планшет типті құралдарға арналған *Influenza virus* А/В қДНҚ амплификациялау бағдарламасы

Цикл	Ротор типті құралдар ⁵			Планшет типті құралдар ⁶		
	Температура, °С	Уақыт	Циклдер саны	Температура, °С	Уақыт	Циклдер саны
1	95	5 мин (FRT нұсқасы үшін) немесе 15 мин (FRT-100 F нұсқасы үшін)	1	95	5 мин (FRT нұсқасы үшін) немесе 15 мин (FRT-100 F нұсқасы үшін)	1
2	95	10 с	10	95	10 с	10
	54	20 с		54	25 с	
	72	10 с		72	25 с	
3	95	10 с	35	95	10 с	35
	54	20 с флуоресц. сигналдың детекциясы		54	25 с флуоресц. сигналдың детекциясы	
		72			10 с	

Флуоресцентті сигналдың детекциясы FAM, JOE және ROX флуорофорлар үшін каналдар бойынша жүргізіледі.

Таблица 3б

SmartCycler (Cepheid, АҚШ) құралы үшін *Influenza virus* А/В қДНҚ амплификациялау бағдарламасы

Цикл	Температура, °С	Уақыт	Флуоресценцияны өлшеу	Циклдер саны
Hold/ темп-раны ұстау	95	900с (FRT-100 F нұсқасы)	–	1
Stage1/ Циклдеу 1	95	15 с	–	42
	54	25 с	флуоресц. сигналдың детекциясы	
	72	25 с	–	

Флуоресцентті сигналдың детекциясы FAM, JOE (Cy3) және ROX (Texas Red) флуорофорлар үшін каналдар бойынша жүргізіледі.

Ескертпе – Амплификаторлардың басқа модельдері үшін амплификациялау бағдарламасы Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (*Influenza*

⁵ мысалы, Rotor-Gene 3000/Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene (Qiagen, Германия) және осы реагенттер жинағын қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған.

⁶ мысалы, ДТ-96 («ДНҚ-Технология», Ресей), iCycler iQ, iQ5 (Bio-Rad, АҚШ) және осы реагенттер жинағын қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ ұсынған.

virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдарда баяндалған.

2. Пробиркаларды құралдың реакциялық модулінің ұяшықтарына орнатыңыз.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Амплификаторға орнату алдында центрифугада/вортексте қысқамерзімді (1-3 с) центрифугалаумен пробиркалардың жақтауларынан тамшыларды шөгінділеу қажет.

3. Флуоресцентті сигнал детекциясымен амплификация бағдарламасының орындалуын іске қосыңыз.

4. Бағдарламаның орындалуы аяқталғанда нәтижелерді талдауға және интерпретациялауға кірісіңіз.

Нәтижелерді талдау және интерпретациялау

Нәтижелерді талдау «нақты уақыт» режиміндегі детекциямен ПТР жүргізу үшін пайдаланылатын құралдың бағдарламалық жасақтамасының көмегімен жүргізіледі. Флуоресцентті сигналдың қисық жинақталуын үш канал бойынша талдайды:

- FAM флуорофорға арналған канал бойынша ІБҮ кДНҚ фрагментінің амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.
- JOE флуорофорға арналған канал бойынша В тұмауы вирусы (*Influenza virus B*) кДНҚ фрагментінің амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.
- ROX флуорофорға арналған канал бойынша А тұмауы вирусы (*Influenza virus A*) кДНҚ фрагментінің амплификация өнімінің жинақталуын растайтын сигнал тіркеледі.

Нәтижелер қисық флуоресценцияның тиісті деңгейде орнатылған шектік линиямен қиылысуының болуы (болмауы) негізінде интерпретацияланады, бұл кДНҚ аталған сынамасы үшін нәтижелер кестесіндегі тиісті бағандағы шектік циклдің *Ct* мәні болуын (немесе болмауын) анықтайды.

Нәтижелерді интерпретациялау принципі төмендегідей:

- егер аталған сынама үшін нәтижелер кестесінде ROX флуорофорға арналған канал бойынша реагенттер жинағына қосымшада көрсетілген шекаралық мәннен аспайтын шектік циклдің *Ct* мәні анықталған болса А тұмауы вирусының РНҚ **анықталады**. Бұл ретте аталған сынама флуоресценциясының қисығы флуоресценция өзіне тән экспоненциальді көтерілу аумағында шектік линиямен қиылысуы тиіс.
- егер аталған сынама үшін нәтижелер кестесінде JOE флуорофорға арналған канал бойынша реагенттер жинағына қосымшада көрсетілген шекаралық мәннен аспайтын шектік циклдің *Ct* мәні анықталған болса В тұмауы вирусының РНҚ **анықталады**. Бұл ретте аталған сынама флуоресценциясының қисығы флуоресценция өзіне тән экспоненциальді көтерілу аумағында шектік линиямен қиылысуы тиіс.
- егер аталған сынама үшін нәтижелер кестесінде ROX және JOE флуорофорға арналған каналдар бойынша шектік циклдің *Ct* мәні анықталмаған болса (жоқ болса), ал FAM флуорофорға арналған шектік циклдің *Ct* мәні реагенттер жинағына қосымшада көрсетілген шекаралық мәннен аспайтын болса А және В тұмауы вирустарының РНҚ **анықталмайды**.

- егер аталған сынама үшін НЕХ немесе ROX флуорофорға арналған канал бойынша шектік циклдің *Ct* мәні анықталмаған болса (жоқ болса) және FAM флуорофорға арналған канал бойынша да *Ct* мәні анықталмаған болса (жоқ болса) немесе көрсетілген шекаралық мәнінен аспайтын болса талдау нәтижесі **нақты емес**. Бұл жағдайда РНҚ экстракциясы кезеңінен бастап тиісті үлгідегі ПТР-зерттеуді қайталау талап етіледі. Нәтижелерді қайталау кезінде талдау үшін материалды қайта жинауды ұсыну керек.
- егер аталған сынама үшін ROX немесе JOE флуорофорға арналған канал бойынша шектік циклдің *Ct* мәні реагенттер жинағына қосымшада көрсетілген шекаралық мәннен асатын болса, ал FAM флуорофорға арналған шектік циклдің *Ct* мәні реагенттер жинағына қосымшада көрсетілген шекаралық мәннен аспайтын болса талдау нәтижесі **күдікті**. Бұл жағдайда РНҚ экстракциясы кезеңінен бастап тиісті үлгідегі ПТР-зерттеуді қайталау талап етіледі. Нәтижелер қайталанғанда үлгі оң болып есептеледі.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Шекаралық *Ct* мәндері реагенттер жинағына қоса ұсынылған қосымшада көрсетілген. Сондай-ақ, Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ әзірлеген биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағын «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» қолдану жөніндегі әдістемелік ұсынымдар.

Егер 4-кестеге сәйкес амплификацияның оң және теріс бақылаулары үшін дұрыс нәтижелер алынса ПТР-зерттеудің нәтижесі дұрыс деп есептеледі.

4-кесте

ПТР-зерттеудің түрлі кезеңдерінің бақылауларына арналған нәтижелер

Бақылау	ПТР-зерттеудің бақыланатын кезеңі	Шектік циклдің мәні, <i>Ct</i>		
		FAM флуорофорға арналған канал бойынша	JOE флуорофорға арналған канал бойынша	ROX флуорофорға арналған канал бойынша
Ба–	РНҚ экстракциясы	Мәні шекаралық мәннен төмен деп анықталған	Мәні жоқ	Мәні жоқ
Б–	ПТР	Мәні жоқ	Мәні жоқ	Мәні жоқ
Б+	ПТР	Мәні шекаралық мәннен төмен деп анықталған	Мәні шекаралық мәннен төмен деп анықталған	Мәні шекаралық мәннен төмен деп анықталған

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ!

1. Егер ПТР (Б+) оң бақылауы үшін **ROX** немесе **JOE** флуорофорға арналған канал бойынша шектік циклдің *Ct* мәні жоқ болса немесе шекаралық мәннен асатын болса осы флуорофорға сай келетін тұмау вирусының РНҚ анықталмаған барлық үлгілер үшін амплификацияны қайталау қажет.
2. Егер РНҚ (Ба–) экстракциясының теріс бақылауы үшін және/немесе ПТР (Б–) теріс бақылауы үшін ROX немесе JOE флуорофорға арналған канал бойынша шектік циклдің *Ct* мәні анықталған болса РНҚ экстракциясы

кезеңінен бастап осы флуорофорға сай келетін тұмау вирусының РНҚ анықталған барлық үлгілер үшін ПТР-зерттеуді қайталау қажет.

1-ҚОСЫМША

РНҚ сынамалардан экстракциялау

А.«РИБО-сорб» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда

1. **Лизистейтін ерітіндіні және шаюға арналған ерітіндіні-1** (егер олар 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақталса) кристалдар толық ерігенге дейін 60-тан 65 °С-ге дейінгі температурада қаздырады.
2. Көлемі 1,5 мл бір реттік пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады (**Ба–** қоса). Әрбір пробиркаға **450 мкл лизистейтін ерітінді және 10 мкл ІБҮ STI-rec** енгізеді. Пробиркаларды таңбалайды.
3. **Лизистейтін ерітінді және ІБҮ STI-rec** бар пробиркаларға сүзгілі ұштықтарды пайдалана отырып **100 мкл** зерттелетін сынама енгізеді. Пипеткамен тамызып араластырады. 3-тен 5 минутқа дейін бөлме температурасында инкубациялайды.
4. **Ба–** пробиркасына **100 мкл ТБҮ** енгізеді.
5. Тығыз жабылған сынамаларды вортексте мұқият араластырады және пробирка қақпағының ішкі беткейінен тамшыларды жоятын микроцентрифугада 5 мың айн/мин болғанда 5 сек ішінде центрифугалайды. Егер пробиркаларда қалқыма бөлшектер (толығымен ерімеген материал) болса микроцентрифугада 1 мин ішінде 10 мың айн/мин болғанда центрифугалайды және артық сұйықтықты басқа пробиркаларға ауыстырады.
6. **Сорбентті** вортексте мұқият ресуспензиялайды. Әрбір пробиркаға жеке ұштықпен **25 мкл** ресуспензияланған **сорбент** қосады. Вортексте араластырады, штативке 1 минутқа қояды, тағы бір рет араластырады және 5 минутқа қалдырады.
7. Сорбентті шөгінділеу үшін пробиркаларды микроцентрифугада 10 мың айн/мин болғанда 30 с ішінде центрифугалайды. Вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған жеке ұштық пайдалану арқылы артық сұйықтықты шығарып тастайды.
8. Пробиркаларға **400 мкл шаюға арналған ерітінді-1** қосады. Вортексте сорбентті толық ресуспензиялағанға дейін араластырады, микроцентрифугада 10 мың айн/мин болғанда 30 с ішінде центрифугалайды. Вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған жеке ұштық пайдалану арқылы артық сұйықтықты шығарып тастайды.
9. Пробиркаларға **500 мкл шаюға арналған ерітінді-3** қосады. Сорбентті вортексте мұқият ресуспензиялайды. Микроцентрифугада 10 мың айн/мин болғанда 30 с ішінде центрифугалайды. Вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған жеке ұштық пайдалану арқылы артық сұйықтықты шығарып тастайды.
10. Шаюды 8-тармақты орындай отырып, **шаюға арналған ерітіндімен-3** қайталайды.
11. Пробиркаларға **400 мкл шаюға арналған ерітінді-4** қосады. Сорбентті вортексте мұқият ресуспензиялайды, микроцентрифугада 10 мың айн/мин

болғанда 30 с ішінде центрифугалайды. Вакуумдық сорғыш пайдаланып, әрбір пробиркадағы артық сұйықтықты жеке ұштықпен толық шығарып тастайды.

12. Сорбентті құрғату үшін пробиркаларды температурасы 60 °С термостатқа 15 минутқа салады. Бұл ретте пробирка қақпақтары ашық болуы тиіс.
13. Пробиркаларға РНҚаз-дан бос сүзгілі ұштықтарды пайдаланып **50 мкл РНҚ-буфер** қосады. Вортексте араластырады. Температурасы 60 °С термостатқа 2-3 минутқа қояды. Вортексте араластырады және пробиркаларды 1 мин ішінде микроцентрифуганың (12-13 тыс айн/мин) ең жоғарғы айналымдарында центрифугалайды.

Артық сұйықтықтың құрамында тазартылған РНҚ және ДНҚ бар. Экстракция аяқталғанда бірден кері транскрипциялау реакциясын жүргізу ұсынылады. Реакция үшін ерітінді іріктеуде **сорбентті ұстамастан** өте сақ болу керек. Егер сорбент лайланып кетсе оны центрифугада шөгінділеу қажет.

Тазартылған РНҚ 4 сағ. дейін 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақтауға болады. Препаратты ұзақ сақтау үшін РНҚ ерітіндісін сорбентті ұстамастан іріктеп алу қажет, стерильді пробиркаға ауыстырып, минус 68 °С-ден аспайтын температурада бір жыл бойы сақтайды.

Б.«РИБО-преп» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда

1. **Лизиске арналған ерітіндіні** (егер ол 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақталса) кристалдар толық ерігенге дейін 65 °С температурада қаздырады.
2. Қақпағы тығыз жабылатын 1,5 мл бір реттік пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады (экстракцияның теріс бақылауын қоса). Әрбір пробиркаға **10 мкл ІБҮ STI-rec** және **300 мкл лизиске арналған ерітінді** енгізеді. Пробиркаларды таңбалайды.
3. **Лизиске арналған ерітінді** және **ІБҮ STI-rec** бар пробиркаларға сүзгілі ұштықтарды пайдалана отырып **100 мкл дайындалған сынама** енгізеді. Экстракцияны теріс бақылау (Ба–) пробиркасына **100 мкл ТБҮ** енгізеді.
4. Пробиркалардың ішіндегісін вортексте мұқият араластырады, пробирка қақпағының ішкі беткейінен тамшыларды жоятын микроцентрифугада 5 мың айн/мин болғанда 5 сек ішінде центрифугалайды және термостатта **5 мин 65 °С-де** қыздырады.
5. Пробиркаларға **400 мкл преципитацияға арналған ерітінді** енгізеді, вортексте араластырады.
6. Пробиркаларды микроцентрифугада **13 мың айн/мин** болғанда **5 мин** ішінде центрифугалайды.
7. Вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған **200 мкл** жеке ұштық пайдалану арқылы шөгіндіге тимей, артық сұйықтықты мұқият іріктеп алады.
8. Пробиркаларға **500 мкл шаюға арналған ерітінді-3** қосады, қақпақты тығыздап жабады және пробиркаларды 3-5 рет төңкеріп шөгіндіні абайлап шаяды. Емшараны барлық пробиркалар үшін бір уақытта жүргізуге болады, бұл үшін пробиркаларды штативті үстінен қақпақпен немесе басқа штативпен жабу қажет, оларды қысады және штативті төңкереді.
9. Микроцентрифугада **13 мың айн/мин** болғанда **1-2 мин** ішінде центрифугалайды.

10. Абайлап, вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған **10 мкл** жеке ұштық пайдалану арқылы шөгіндіні ұстамастан, артық сұйықтықты іріктеп алады.
11. Пробиркаларға **200 мкл шаюға арналған ерітінді-4** қосады, қақпақты тығыздап жабады және пробиркаларды 3-5 рет төңкеріп шөгіндіні абайлап шаяды.
12. Микроцентрифугада **13 мың айн/мин** болғанда **1-2 мин** ішінде центрифугалайды.
13. Абайлап, вакуумдық сорғыш және әрбір сынамаға арналған **10 мкл** жеке ұштық пайдалану арқылы шөгіндіні ұстамастан, артық сұйықтықты іріктеп алады.
14. Шөгіндіні құрғату үшін пробиркаларды температурасы **65 °C** термостатқа **5 мин** салады (бұл ретте пробирка қақпақтары ашық болуы тиіс).
15. Пробиркаларға **50 мкл РНҚ-буфер** қосады. Вортесте араластырады. Вортесте мезгіл-мезгіл сілжумен, температурасы **65 °C** термостатқа **5 мин** салады.
16. Пробиркаларды микроцентрифугада **13 мың айн/мин** болғанда **1 мин** ішінде центрифугалайды.
17. Артық сұйықтықтың құрамында тазартылған РНҚ бар. Экстракция аяқталғанда бірден кері транскрипциялау реакциясын жүргізу ұсынылады. Тазартылған РНҚ 4 сағ. дейін 2-ден 8 °C-ге дейінгі температурада, бір ай ішінде – минус 16 °C-ден аспайтын температурада, одан ұзақ –минус 68 °C-де аспайтын температурада сақтауға болады.

В. NucliSENS easyMAG автоматты станциясын пайдаланғанда

1-нұсқа. РНҚ үлгі лизисімен құралдан тыс экстракциялау

Бұл экстракциялау әдісі NucliSens лизисіне арналған буфердің шығынын азайтады және құрамында ұйынды (қақырық, аспираттар) бар клиникалық материалдың үлгілерімен жұмыс істегенде дұрысырақ.

Жұмыс істеу тәртібі

1. NucliSENS easyMAG құралын іске қосады және құралдың нұсқаулығын орындай отырып оны РНҚ экстракциясына дайындайды.
2. Зерттелетін үлгілерді енгізуге арналған терезеде әрбір үлгі үшін келесі параметрлерді енгізеді: үлгінің атауы РНҚ экстракциясына арналған материал (*Matrix*) – *Other* орнатады, үлгі көлемі (*Volume*) – *0,1 ml*, элюция көлемі (*Eluate*) – *25 mkl*, үлгі типі (*Type*) – *Lysed*, үлгілердегі РНҚ экстракциясының кезектілігі (*Priority*) – *Normal*.
3. РНҚ экстракциясының жаңа хаттамасын әзірлейді және оны сақтап қояды. Хаттамада лизис және үлгілердің инкубациясы құралдан тыс жүретінін көрсетеді: *On-board Lysis Buffer Dispensing – No, On-board Lysis Incubation – No*.
4. Үлгілер кестесін әзірленген хаттамаға ауыстырады.
5. NucliSENS easyMAG құралында РНҚ экстракциясына арналған мамандандырылған бір реттік пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады (экстракцияның теріс бақылауын қоса). Әрбір пробиркаға ішкі жақтауларына **10 мкл ІБҮ STI-rec** енгізеді. Пробиркаларға **550 мкл NucliSens лизисіне арналған буфер** қосады.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! Құрамында ұйынды бар материалмен жұмыс істегенде лизисті көлемі 1,5 мл пробиркаларда жүргізу ұсынылады. Инкубация аяқталғаннан кейін **(8-т. қар.)** пробиркаларға 10 мың айн/мин болғанда микроцентрифугада 1 мин ішінде центрфугалау жүргізу керек және артық сұйықтықты NucliSENS easyMAG құралында РНҚ экстракциясына арналған арнайы пробиркаларға ауыстырады.

6. **Лизиске арналған буфері** және **ІБҮ STI-rec** бар пробиркаларға сүзгілі ұштықтарды пайдалану арқылы **100 мкл** дайындалған сынаманы енгізеді және пипеткамен тамызыпмен мұқият араластырады. Пробиркаға шырыш ұйындысы және ірі бөлшектер түсіп кетуіне жол бермеңіз.
7. Экстракцияның теріс бақылауына арналған пробиркаға **(Ба–)** в **100 мкл ТБҮ** енгізеді.
8. 10 мин ішінде бөлме температурасында инкубациялайды.
9. Вортексте көбірек араластырып пробирканы **NucliSens магниттік силикасымен** ресуспензиялайды. Әрбір пробиркаға жеке сүзгілі ұштықпен **25 мкл магниттік силика** енгізеді және пипеткамен тамызып мұқият араластырады. Магниттік силика пробирканың бүкіл көлемімен тең бөлінуі тиіс.
10. Үлгілер бар пробиркаларды құралға салады, ұштықтарды орнатады, РНҚ үлгілер лизисімен құралдан тыс экстракциялау бағдарламасын іске қосады **(Off board)**.
11. РНҚ экстракциясы аяқталғаннан кейін пробирканы құралдан алып тастайды. Артық сұйықтықтың құрамында тазартылған РНҚ бар. Экстракция аяқталғаннан кейін бірден кері транскрипциялау реакциясын жүргізу ұсынылады.

Қажет болса тазартылған РНҚ сақтауды экстракциядан кейін 30 минуттан кешіктірмей стерильді пробиркаларға ауыстыру керек. Тазартылған РНҚ 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 4 сағ дейін, бір ай ішінде – минус 16 °С-ден аспайтын температурада, одан ұзақ – минус 68 °С-де аспайтын температурада сақтауға болады.

2-нұсқа. РНҚ үлгі лизисімен құралда экстракциялау

Жұмыс істеу тәртібі

1. NucliSENS easyMAG құралын іске қосады және құралдың нұсқаулығын орындай отырып оны РНҚ экстракциясына дайындайды.
2. Зерттелетін үлгілерді енгізуге арналған терезеде әрбір үлгі үшін келесі параметрлерді енгізеді: үлгінің атауы, РНҚ экстракциясына арналған материал (**Matrix**) – **Other** орнатады, үлгі көлемі (**Volume**) – **0,1 ml**, элюция көлемі (**Eluate**) – **25 mkl**, үлгі типі (**Type**) – **Primary**, үлгілердегі РНҚ экстракциясының кезектілігі (**Priority**) – **Normal**.
3. РНҚ экстракциясының жаңа хаттамасын әзірлейді және оны сақтап қояды. Хаттамада лизис және үлгілердің инкубациясы құралдан тыс жүретінін көрсетеді: **On-board Lysis Buffer Dispensing – Yes, On-board Lysis Incubation – Yes**.
4. Үлгілер кестесін әзірленген хаттамаға ауыстырады.
5. NucliSENS easyMAG құралында РНҚ экстракциясына арналған бір реттік пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады **(Ба–** қоса). Әрбір

- пробиркаға ішкі жақтауларына **10 мкл ІБҮ STI-rec** енгізеді.
6. **ІБҮ** бар пробиркаларға сүзгілі ұштықтарды пайдалану арқылы **100 мкл дайындалған сынама**ны енгізеді. (Пробиркаға шырыш ұйындысы және ірі бөлшектер түсіп кетуіне жол берменіз).
 7. Экстракцияның теріс бақылауына арналған пробиркаға (**Ба–**) в **100 мкл ТБҮ** енгізеді.
 8. Үлгілер бар пробиркаларды құралға салады, ұштықтарды орнатады, РНҚ үлгілер лизисімен құралда экстракциялау бағдарламасын іске қосады (**On board**).
 9. NucliSENS easyMAG автоматты станциясы **Instrument State – Idle** күйінде жұмыс істеуін тоқтатпағанша күтіңіз.
 10. Вортексте көбірек араластырып пробирканы **NucliSens магниттік силикасымен** ресуспензиялайды. Құралдың қақпағын ашады, әрбір пробиркаға жеке сүзгілі ұштықпен **25 мкл магниттік силика** енгізеді және пипеткамен тамызып мұқият араластырады. Магниттік силика пробирканың бүкіл көлемімен тең бөлінуі тиіс.
 11. Құралдың қақпағын жабады және РНҚ экстракциялау бағдарламасын жалғастырады.
 12. РНҚ экстракциясы аяқталғаннан кейін пробирканы құралдан алып тастайды. Артық сұйықтықтың құрамында тазартылған РНҚ бар. Экстракция аяқталғаннан кейін бірден кері транскрипциялау реакциясын жүргізу ұсынылады.

Қажет болса тазартылған РНҚ сақтауды экстракциядан кейін 30 минуттан кешіктірмей стерильді пробиркаларға ауыстыру керек. Тазартылған РНҚ 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада 4 сағ дейін, бір ай ішінде – минус 16 °С-ден аспайтын температурада, одан ұзақ – минус 68 °С-де аспайтын температурада сақтауға болады.

2-ҚОСЫМША

«РЕВЕРТА-L» реагенттер жиынтығын пайдаланғанда кері транскрипциялау реакциясын жүргізу

Реакцияның жалпы көлемі – 20 мкл, РНҚ сынамасының көлемі – 10 мкл.

НАЗАР АУДАРЫҢЫЗ! РНҚ жұмыс істеу кезінде арнайы RNase-free, DNase-free таңбалары бар бір реттік стерильді пластик шығын материалдарын пайдалану қажет.

Жұмыс істеу тәртібі

1. Көлемі 0,2 (0,5) мл пробиркалардың қажетті мөлшерін іріктеп алады.
2. Реакциялық қоспаны 12 реакцияға дайындайды. Бұл үшін **RT-mix** бар пробиркаға **5 мкл RT-G-mix-1** енгізеді және вортексте мұқият араластырады, пробирка қақпағынан тамшыны шөгінділеді.
3. Алынған ерітіндіге **6 мкл ревертаза (MMIv)** қосады, 5 рет пипеткамен тамызады, вортексте араластырады. Қысқа мерзімді центрифугалаумен пробирка қақпағынан тамшыны шөгінділеді.
4. Пробиркаларға **10 мкл** дайын реакциялық қоспаны енгізеді.
5. Кедергісі бар ұштықты пайдаланып реакциялық қоспа тұрған пробиркаға **10 мкл РНҚ сынамасын** қосады. Пипеткамен тамызып мұқият араластырады.
6. Пробиркаларды амплификаторға (термостат) 37 °С температурада 30 минутқа қояды.
7. Келесі қойылым үшін кДНК кері транскрипциялау реакциясында алынған ПТР ДНҚ-буфермен (**20 мкл кДНК-ға** сүзгілі жеке ұштықпен **20 мкл ДНҚ-буфер** қосады, вортексте араластырады және пробирка қақпағының ішкі беткейінен тамшыларды шығару үшін вортексте 5 сек ішінде центрифугалайды) 2 рет сұйылтады.

кДНК дайын препаратын минус 16 °С-ден аспайтын температурада 1 апта ішінде немесе минус 68 °С-ден аспайтын температурада бір жыл ішінде сақтауға болады.

3-ҚОСЫМША

**«ПТР-жиынтығы» реагенттер жиынтығы FRT-100 F нұсқасы үшін
амплификация жүргізуге арналған реакциялық қоспаларды
дайындаудың есептік кестесі**

	Көрсетілген реакциялардың санына қатысты реактивтер көлемі		
Бір реакцияға қатысты реагент көлемі, мкл	10,0	5,0	0,5
Реакциялар саны ⁷	ПТР-қоспа-1-FL-F <i>Influenza virus A/B</i>	ПТР-қоспа-2- FRT	Полимераза (TaqF)
6	60	30	3,0
8	80	40	4,0
10	100	50	5,0
12	120	60	6,0
14	140	70	7,0
16	160	80	8,0
18	180	90	9,0
20	200	100	10,0
22	220	110	11,0
24	240	120	12,0
26	260	130	13,0
28	280	140	14,0
30	300	150	15,0
32	320	160	16,0

⁷ Бір үлгі артығымен (N+3+1), РНҚ экстракциясы кезеңінің бақылауын (N), ПТР кезеңінің бақылауын қоса, зерттелетін үлгілер саны

Қысқартулар тізімі

Осы нұсқаулықта келесі қысқартулар мен белгілер қолданылады:

БАЛ	- Бронхоальвеолярлық лаваж
ІБҮ STI-rec	- Гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен жинақтарға арналған ішкі бақылау үлгісі
Ба–	- Экстракцияның теріс бақылауы
Ба+	- Экстракцияның оң бақылауы
Б+	- ПТР оң бақылауы
Б–	- ПТР теріс бақылауы
кДНҚ	- РНҚ матрицасында кері транскрипциялау реакциясында алынатын комплементарлы ДНҚ
ТБҮ	- Теріс бақылау үлгісі
КТ	- Кері транскрипция
ОБҮ	- Оң бақылау үлгісі
ПТР	- Полимеразалық тізбекті реакция
Ресейтұтынуқадағ алау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ	- Тұтынушылардың құқықтары мен адам амандығын қорғау саласындағы Федералдық қадағалау қызметінің «Орталық ғылыми-зерттеу эпидемиология институты» Федералды бюджеттік ғылым мекемесі
FER	- «Соңғы нүкте» бойынша флуоресцентті детекция
FRT	- «Нақты уақыт» режиміндегі флуоресцентті детекция

Сақтау шарттары

«РИБО-сорб», «РИБО-преп» және «ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығын 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада сақтау керек.

ПТР-қоспа-1-FL-F Influenza virus A/B, ПТР-қоспа -2-FRT және полимераза (TaqF) («ПТР-жиынтық» реагенттер жиынтығынан FRT-100 F нұсқасы) минус 16 °С-ден аспайтын температурада сақтау керек.

ПТР-қоспа -1-FL Influenza virus A/B және ПТР-қоспа -1-FL-F Influenza virus A/B жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

«РЕВЕРТА-L» реагенттер жиынтығын минус 16 °С-ден аспайтын температурада сақтау керек.

Тасымалдау

Реагенттер жинағын 5 тәуліктен асырмай 2-ден 8 °С-ге дейінгі температурада тасымалдайды. Алған кезде бірден көрсетілген сақтау температураларына сәйкес жиынтықтайды.

Босатылу шарттары

Емдік-профилактикалық және санитариялық-профилактикалық мекемелер үшін.

Сақтау мерзімі

FEP нұсқасының барлық жиынтықталым формалары үшін – 9 ай. 1, 3, 4 (FRT нұсқасы), 5, 6 (FRT-100 F нұсқасы) жиынтықталым формалары үшін – 9 ай.

2 (FRT-100 F нұсқасы) жиынтықталым формалары үшін – 12 ай.

Жарамдылық мерзімі өткен реагенттер жинағын қолдануға болмайды. Ашылған реагенттердің жарамдылық мерзімі, егер нұсқаулықта өзгеше көрсетілмесе, ашылмаған реагенттер үшін заттаңбаларда көрсетілген жарамдылық мерзіміне сай келеді.

Баспалы өнімде пайдаланылатын символдар

	Каталогтағы нөмірі		Абайлаңыз! Ілеспе құжаттамаға қараңыз
	Партия коды		Тесттердің ең жоғарғы саны
	in vitro диагностикаға арналған бұйым		... дейін пайдалану керек
	Өзгерген күні		Пайдалану жөніндегі нұсқаулыққа қараңыз
	Температура шектеуі		Күн сәулесінің түсуіне жол бермеңіз
	Өндіруші		Дайындалған күні

Осыған сәйкес медициналық мақсаттағы бұйым өндірілген нормативтік құжат

Биологиялық материалда гибридизациялық-флуоресцентті детекциямен полимеразалық тізбекті реакция (ПТР) әдісі арқылы А тұмауы (Influenza virus A) және В тұмауы (Influenza virus B) вирустарының РНҚ анықтауға арналған реагенттер жинағы «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL»

Техникалық шарттар ТШ 9398-080-01897593-2012.

Өндіруші

Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ (111123, Мәскеу қ-сы, Новогиреевская к-сі, 3а үй, тел. (495) 974-96-42, факс (495) 305-54-23 e-mail: obtk@pcr.ru)

Реагенттер жинағының сапасын қатысты рекламацияларды

Ресейтұтынуқадағалау Эпидемиология ОҒЗИ ФБҒМ дайындаушы кәсіпорнына жолдаңыз (111123

Мәскеу қ-сы, Новогиреевская к-сі, 3а) үй, рекламациялармен жұмыс және оқуды ұйымдастыру бөлімі (тел. (495) 974-96-46, факс (495) 916-18-18, e-mail: products@pcg.ru).

«АмплиСенс» өнімдері туралы пікірлерді және ұсыныстарды www.amplisens.ru сайтында тұтынушы анкетасын толтыра отырып қалдыруға болады.

Қазақстан Республикасы аумағында тұтынушылардан медициналық мақсаттағы бұйымның сапасы жөніндегі шағымдарды қабылдайтын тараптың мекенжайы

«КБ Диагностик» ЖШС Алматы обл., Іле ауд., Боралдай кенті, (Аэропорт), тел./факс 8 (727) 331-31-47, 331-31-42

E-mail info@kb-diagnostic.kz