

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор центра постгеномных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России)



Г.А. Шипулин

2026 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для выявления

РНК хантавирусов, возбудителей геморрагической

лихорадки с почечным синдромом,

методом полимеразной цепной реакции

«АмплиТест® Хантавирусы»



ФГБУ «ЦСП» ФМБА России,
119121, Российская Федерация,
г. Москва, Погодинская ул., д.10 стр. 1

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАИМЕНОВАНИЕ.....	4
НАЗНАЧЕНИЕ	4
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.....	5
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ	5
ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ	5
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ, КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ И СОСТАВ НАБОРА	7
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	10
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	14
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	15
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	18
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	21
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК.....	22
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ	24
ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	24
Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» вариант 50.....	24
Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 и магнитного штатива.....	26
Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 и автоматической станции	29
ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	32
А. Подготовка проб для амплификации	32
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	33
В. Анализ и интерпретация результатов.....	34
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	37
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	39
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	40

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

кДНК	- комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ВКО	- внутренний контрольный образец
ГА	- гемагглютинирующая активность
ГЭ	- геномный эквивалент – количество РНК-мишени (1 копия), содержащейся в 1 геноме вируса
ГКВ	- государственная коллекция вирусов
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК	- рибонуклеиновая кислота
НК	- нуклеиновые кислоты
ПК	- положительный контроль экстракции и ОТ-ПЦР
ПКО	- положительный контрольный образец
К–	- отрицательный контроль ОТ-ПЦР
КОЕ	- колониеобразующая единица, показывающая количество микробных клеток
ОТ-ПЦР	- полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПИВ	- потенциально интерферирующие вещества
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РУ	- регистрационное удостоверение
ФГБУ «ЦСП» ФМБА России	- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства
СанПиН	- санитарно-эпидемиологические правила и нормы
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»
ТСID ₅₀ /мл, ТЦД ₅₀ /мл	- тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50% клеток монослоя
LD ₅₀ /мл	- средняя летальная доза, вызывающая гибель 50% животных
ИД ₅₀ /мл	- инфицирующая доза, вызывающая инфицирование лабораторной тест-системы (животные, культура клеток) в 50% случаев
PUUV	- вирус Пуумала (<i>Orthohantavirus puumalaense</i>)
DOBV	- вирус Добrava (<i>Orthohantavirus dobravaense</i>)
HNTV	- вирус Хантаан (<i>Orthohantavirus hantanense</i>)
SEOV	- вирус Сеул (<i>Orthohantavirus seoulense</i>)

НАИМЕНОВАНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК хантавирусов, возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом, методом полимеразной цепной реакции «АмплиТест® Хантавирусы», (далее – набор реагентов «АмплиТест® Хантавирусы», набор реагентов).

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для качественного определения и идентификации РНК хантавирусов Пуумала (*Orthohantavirus puumalaense*), Сеул (*Orthohantavirus seoulense*), Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*), возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом, в биологическом материале человека (лейкоцитарная фракция крови, сыворотка крови, моча) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Функциональное назначение - для диагностики *in vitro* геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызванной хантавирусами Добрава, Пуумала, Хантаан, Сеул.

Популяционные, демографические аспекты применения

Выявление и идентификация РНК хантавирусов Пуумала (*Orthohantavirus puumalaense*), Сеул (*Orthohantavirus seoulense*), Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*), возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом, методом ПЦР проводится пациентам всех возрастных групп с клинической симптоматикой и при подозрении на инфекции, вызванные данными возбудителями, в особенности проживающим в сельской местности, контактирующим с грызунами и продуктами их жизнедеятельности, работникам сельского и лесного хозяйства в эпидемиологически неблагополучных регионах, сразу после первичного осмотра, вне зависимости от их половой категории, расовой принадлежности.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на наличие хантавирусов, возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания, в том числе для ранней диагностики.

Противопоказания к применению отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

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

Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип исследования основывается на экстракции РНК из образцов исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом (ВКО IC-R1), с проведением на следующем этапе реакции обратной транскрипции РНК и амплификации участков кДНК выявляемых вирусов и кДНК ВКО IC-R1 с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

ВКО IC-R1 позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние потенциальных ингибиторов на результаты ПЦР-исследования, служит для исключения ложноотрицательных результатов.

С полученными на этапе экстракции пробами РНК проводится обратная транскрипция РНК с помощью ревертазы и амплификация участков кДНК при помощи специфичных к этим участкам праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой кДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

При исследовании одновременно в одной пробирке проводятся 3 реакции ОТ-ПЦР для ПЦР-смеси-FL DOBV/PUUV – реакция обратной транскрипции РНК и амплификация кДНК вируса Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*), реакция обратной транскрипции РНК и амплификация кДНК вируса Пуумала (*Orthohantavirus puumalaense*), реакция обратной транскрипции РНК и амплификация последовательности кДНК ВКО IC-R1. Для ПЦР-смеси-FL HNTV/SEOV в одной пробирке одновременно проводятся 3 реакции ОТ-ПЦР – реакция обратной транскрипции РНК и амплификация кДНК вируса Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), реакция обратной транскрипции РНК и амплификация кДНК вируса Сеул (*Orthohantavirus seoulense*), реакция обратной транскрипции РНК и амплификация последовательности кДНК ВКО IC-R1. Результаты амплификации для каждой ПЦР-смеси-FL регистрируются по 3 различным каналам флуоресцентной детекции (см. табл. 1).

Таблица 1 — Анализ результатов по каналам для флуорофоров

Наименование ПЦР-смеси	Канал для флуорофора	FAM	JOE (HEX)	ROX
ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV	кДНК-мишень	ВКО IC-R1	кДНК вируса Хантаан	кДНК вируса Сеул
	Область амплификации	искусственно синтезированная последовательность	S сегмент генома	
ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV	кДНК-мишень	ВКО IC-R1	кДНК вируса Добрава	кДНК вируса Пуумала
	Область амплификации	искусственно синтезированная последовательность	S сегмент генома	

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ, КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ И СОСТАВ НАБОРА

Набор реагентов выпускается в двух формах комплектации.

Форма 1 включает комплекты реагентов «РИБО-преп» вариант 50 и «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F.

Форма 2 включает комплекты реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 и «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F.

Все формы комплектации набора реагентов предназначены для выполнения полного ОТ-ПЦР-исследования, включающего экстракцию РНК, проведение реакции обратной транскрипции РНК и амплификации участка кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени», что позволяет определять и дифференцировать РНК хантавирусов Хантаан, Сеул, Добрава и Пуумала в качественном формате.

Форма 1 предназначена для полного исследования биологического материала человека (лейкоцитарной фракции крови, сыворотки крови, мочи) с использованием ручного метода экстракции РНК.

Форма 2 предназначена для полного исследования биологического материала человека (лейкоцитарной фракции

крови, сыворотки крови, мочи) с использованием магнитного сорбента для экстракции РНК как ручным, так и автоматическим методом.

Набор реагентов рассчитан на проведение 50 определений, включая контроли.

Комплект поставки:

- набор реагентов «АмплиТест® Хантавирусы»;
- инструкция по применению;
- краткое руководство;
- вкладыш;
- паспорт качества.

Состав набора

«РИБО-преп» вариант 50 – комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Раствор для лизиса	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета ¹	15,0	1 флакон
Раствор для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	20,0	1 флакон
Раствор для отмывки 3	Прозрачная бесцветная жидкость	25,0	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	10,0	1 флакон
РНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	4 пробирки

К комплекту реагентов «РИБО-преп» вариант 50 прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ВКО IC-R1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
ПКО РНК HNTV/SEOV	Прозрачная бесцветная жидкость	0,15	1 пробирка
ПКО РНК DOBV/PUUV	Прозрачная бесцветная жидкость	0,15	1 пробирка

«РИБО-преп» вариант 50 рассчитан на экстракцию РНК/ДНК из 50 образцов, включая контроли. Входит в состав формы 1.

¹ При хранении при температуре от 2 до 8°C возможно образование осадка в виде кристаллов

«Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 – комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Раствор для лизиса Плюс	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета ²	35,0	1 флакон
Буфер GT	Прозрачная бесцветная жидкость	0,80	1 пробирка
Магнитный сорбент	Суспензия коричневого цвета	1,25	2 пробирки
Раствор для отмывки Плюс	Прозрачная бесцветная жидкость	45,0	1 флакон
Раствор для отмывки 3	Прозрачная бесцветная жидкость	30,0	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	30,0	1 флакон
Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	5,0	1 флакон

К комплекту реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	4 пробирки
ВКО IC-R1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
ПКО РНК HNTV/SEOV	Прозрачная бесцветная жидкость	0,15	1 пробирка
ПКО РНК DOBV/PUUV	Прозрачная бесцветная жидкость	0,15	1 пробирка

«Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 рассчитан на экстракцию РНК/ДНК из 50 образцов, включая контроли. Входит в состав формы 2.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F – комплект реагентов для проведения реакции обратной транскрипции РНК и амплификации участков кДНК хантавирусов видов Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), Сеул (*Orthohantavirus seoulense*), Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*) и Пуумала

² При хранении при температуре от 2 до 8°C возможно образование осадка в виде кристаллов

(*Orthohantavirus puumalaense*) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,6	1 пробирка
ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета	0,6	1 пробирка
ОТ-ПЦР-буфер-R	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
Taq полимераза	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка
Ревертаза (MMIv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,04	1 пробирка
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	0,4	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 100 реакций обратной транскрипции и амплификации (всего 50 тестов), включая контроли. Входит в состав форм 1 и 2.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2 — Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиТест® Хантавирусы»

Вид исследуемого материала	Комплект для экстракции РНК	Аналитическая чувствительность (предел обнаружения), ГЭ/мл	
		PUUV, HNTV	DOBV, SEOV
Лейкоцитарная фракция крови, сыворотка крови, моча	«РИБО-преп»	5×10^3	1×10^3
	«Магно-Сорб-Плюс»	2×10^3	5×10^2

Данный предел обнаружения достигается при соблюдении правил, указанных в разделах «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала» и «Подготовка исследуемого материала к экстракции РНК».

Аналитическая специфичность

Набор реагентов специфично и дифференцированно обнаруживает участки РНК хантавирусов Пуумала (*Orthohantavirus puumalaense*), Сеул (*Orthohantavirus seoulense*), Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*):

- чувствительность к вирусам Пуумала, Добрава, Хантаан, Сеул подтверждена *in vitro* при исследовании штаммов вируса Хантаан «4959» ГKB 709/2 ($1 \times 10^{4,5}$ ИД₅₀/мл), принадлежащего генетическому кластеру изолятов из северной части Республики Корея; Хантаан - «Уссури-4590» ГKB 710/2 (1×10^5 ИД₅₀/мл, 6×10^6 ГЭ/мл), идентичного генетическим вариантам вируса из Китая (KP970572); вируса Сеул генетической линии S4 «СК-515/Грузия-88» ГKB 987/2 (4×10^6 ГЭ/мл); вируса Пуумала генотипа Rus 3 «K27/Уфа-85» ГKB 986/2 ($9,5 \times 10^6$ ГЭ/мл); вируса Добрава генотипа Сочи «Добрава/Белград КЛМ-47/Сочи-01» ГKB 988/2 ($5,5 \times 10^6$ ГЭ/мл) из Государственной коллекции вирусов ФГБУ НИИ вирусологии им Д.И. Ивановского;

- для других генотипов, генетических линий и геновариантов вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан, Сеул возможность обнаружения РНК целевых вирусов подтверждена *in silico* при исследовании данных о более чем 2000 последовательностях гена нуклеопротеина, размещенных в базе NCBI.

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании штаммов вируса Западного Нила «48-ЗН» ГKB 932/2 ($1 \times 10^{6,5}$ LD₅₀/мл), энтеровируса ЕСНО типа 1 «Faroun T10» ГKB 171 (1×10^5 TCID₅₀/мл), энтеровируса ЕСНО типа 11 «Влад/б» ГKB 2271 (1×10^6 TCID₅₀/мл), энтеровируса типа 71 «EV71» ГKB 1750 (1×10^4 TCID₅₀/мл), энтеровируса Коксаки А7 «МКВ-4» ГKB 2298 (1×10^6 TCID₅₀/мл), вируса кори «Mvi/Moscow.Rus/05.99.» ГKB 2360 (1×10^5 TCID₅₀/мл), вируса гриппа А (H2N3) «А/Утка/Германия/1215/73» ГKB 1565 ($1 \times 10^{5,5}$ ЛД₅₀/мл) из Государственной коллекции вирусов ФГБУ НИИ вирусологии им Д.И. Ивановского; полиовируса типа 1 Sabin вакцинный 622 ($1 \times 10^{8,6}$ ТЦД₅₀/мл) из коллекции ФГБНУ «ФНЦИ-РИП» им. М.П. Чумакова РАН; вируса гриппа А (H3N2) (А/Красноярск/НИИГ-20/21) (1:128 ГА), вируса гриппа А (H1N1) pdm

(А/С.-Петербург/НИИГ-94/20) (1:32 ГА), вируса простого герпеса I типа «248/Ленинград/88» (1×10^6 ТЦД₅₀/мл) из коллекции ФГБУ НИИ гриппа им. А.С.Смородинцева; штаммов *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 6538 ($1,3 \times 10^7$ копий/мл), *Haemophilus influenzae* ATCC 49766 не менее 1×10^8 КОЕ/мл, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* ATCC 700603 не менее 1×10^8 КОЕ/мл из коллекции ФГБУ «ЦСП» ФМБА России; препарат геномной ДНК человека № D7011 («Sigma-Aldrich», США) (0,2 мг/мл).

При тестировании вышеперечисленных образцов неспецифических (ложноположительных или ложноотрицательных) реакций (результатов) выявлено не было.

Отсутствие перекрестных реакций доказано на клиническом материале, содержащем ДНК/РНК других возбудителей инфекций: образцах сыворотки крови, содержащих РНК гепатита А, ДНК гепатита В, образцах мочи, содержащих ДНК *Staphylococcus aureus*, модельных образцах лейкоцитарной фракции крови и мочи, контаминированных штаммом вируса Западного Нила «48-3Н» ГKB 932/2 из Государственной коллекции вирусов ФГБУ НИИ вирусологии им Д.И. Ивановского; для каждого возбудителя инфекции по 25 образцов биологического материала. Наличие РНК/ДНК возбудителей инфекций в клиническом материале подтверждено с помощью ПЦР наборов реагентов «Ампли-Сенс® MRSA скрин титр-FL» по ТУ 9398-190-01897593-2012 (ПУ № ФСР 2012/13998); «Ампли-Сенс® HBV-FL» (ПУ № ФСР 2007/00585); «АмплиСенс® HAV-FL» по ТУ 9398-105-01897593-2012 (ПУ № ФСР 2010/07304); «АмплиСенс® WNV-FL» (ПУ № ФСР 2011/11503).

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Для контроля эффективности экстракции нуклеиновых кислот и ОТ-ПЦР в наборе реагентов предусмотрена одновременная обратная транскрипция РНК и амплификация кДНК хантавирусов видов Хантаан (*Orthohantavirus hantanense*), Сеул (*Orthohantavirus seoulense*) и внутреннего контрольного образца (ВКО IC-R1) в одной пробирке, и вирусов Добрава (*Orthohantavirus dobravaense*), Пуумала (*Orthohantavirus*

dobravaense) и внутреннего контрольного образца (ВКО IC-R1) в другой пробирке.

ВКО IC-R1 добавляется в каждый образец биологического материала на этапе экстракции РНК. В ходе реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов кДНК ВКО, говорит об отсутствии ингибирования ОТ и ПЦР.

Непригодными для исследования являются образцы, объем, условия/срок хранения и транспортировки которых не соответствуют требованиям, указанным в разделе «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала».

Потенциально интерферирующие вещества (ПИВ)

Для оценки потенциальной интерференции выбрали эндогенные (гемоглобин, билирубин, триглицериды, альбумин, мочевины) и экзогенные (гепарин, новокаин, динатриевая соль ЭДТА, тобрамицин) вещества, которые могут присутствовать в исследуемом образце биологического материала (лейкоцитарной фракции крови, сыворотке крови, моче).

Результаты оценки представлены в табл. 3.

Таблица 3 — Оценка влияния потенциально интерферирующих веществ

Биологический материал	Вид ПИВ	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерференции
Сыворотка крови	Эндогенные вещества	Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружено
		Билирубин	20 мг/дл	Не обнаружено
		Триглицериды	33 мг/мл	Не обнаружено
		Альбумин	50 мг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Новокаин	0,05 мг/мл	Не обнаружено
Лейкоцитарная фракция крови	Эндогенные вещества	Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружено
		Билирубин	20 мг/дл	Не обнаружено
		Триглицериды	33 мг/мл	Не обнаружено
		Альбумин	50 мг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Гепарин	12 МЕ/мл	Обнаружено
		Na ₂ ЭДТА	2,0 мг/мл	Не обнаружено
Моча	Эндогенные вещества	Мочевина	90 мг/дл	Не обнаружено
		Альбумин	5 мг/дл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Тобрамицин	51,4 ммоль/л	Не обнаружено

Воспроизводимость

Воспроизводимость исследования (с учетом повторяемости) была определена для набора реагентов в двух лабораториях, разными операторами, в разные дни, на различных приборах.

Испытания показали 100 % воспроизводимость и повторяемость результатов исследования.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностические чувствительность и специфичность набора реагентов были определены на основании результатов клинических испытаний с использованием образцов биологического материала человека (лейкоцитарной фракции крови, сыворотки крови, мочи) испытуемым набором реагентов «АмплиТест® Хантавирусы», а также методом сравнения (секвенирование по Сэнгеру). Клинические испытания были проведены с использованием следующих приборов: Rotor-Gene Q (РУ № ФСЗ 2010/07595), C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (РУ № ФСЗ 2008/03399), «ДТпрайм» (РУ № ФСР 2011/10229). Диагностические характеристики (чувствительность и специфичность) набора реагентов представлены в табл 4.

Таблица 4 — Диагностические характеристики набора реагентов «АмплиТест® Хантавирусы» формы 1, 2

Вид исследуемого материала	Возбудитель	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Лейкоцитарная фракция крови	PUUV	88,4-100 %	96,4-100 %
	HNTV	86,3-100 %	96,6-100 %
	SEOV	86,3-100 %	96,6-100 %
	DOBV	86,3-100 %	96,6-100 %
Сыворотка крови	PUUV	88,4-100 %	96,4-100 %
	HNTV	86,3-100 %	96,6-100 %
	SEOV	86,3-100 %	96,6-100 %
	DOBV	86,3-100 %	96,6-100 %
Моча	PUUV	88,4-100 %	96,4-100 %
	HNTV	86,3-100 %	96,6-100 %
	SEOV	86,3-100 %	96,6-100 %
	DOBV	86,3-100 %	96,6-100 %

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Исследования по выявлению в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней, должны проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

В соответствии с требованиями санитарных правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» лабораторные исследования клинического материала, подозрительного на заражение хантавирусами с использованием молекулярно-генетических методов без накопления возбудителя проводят в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на выполнение работ с использованием ПБА III-IV групп патогенности.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещениях лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %.
- Рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные; инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09.
- Исследования проводятся в боксированных помеще-

ниях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зонах Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку³, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

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

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники)

³ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г

необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.

- Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

- Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

- К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

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

- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и при необходимости обратиться за медицинской помощью.

- При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

- Информационное письмо о безопасности набора реагентов доступно по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

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

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Вакуумная система забора крови Vacuette. Взятие венозной крови для получения сыворотки проводится в пробирку без антикоагулянта. Взятие венозной крови для получения лейкоцитарной фракции проводится в пробирку с K2/K3 ЭДТА.
2. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный.

Предварительная подготовка исследуемого материала

1. Гемолитик, реагент для селективного лизиса эритроцитов цельной крови.
2. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся или завинчивающиеся пробирки с крышками объемом 1,5 - 2,0 мл.
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200, до 1000 мкл.
4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.
5. Микроцентрифуга-вортекс.
6. Механические дозаторы переменного объема с возможностью дозирования от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл.

7. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g.
8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
10. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция РНК из исследуемых образцов

1. Ламинарный бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
2. Автоматическая станция для экстракции НК (например, станция Auto-Pure 96 («Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.», Китай), РУ № РЗН 2021/14263), зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям (при использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс»):
 - возможность реализации последовательности этапов экстракции в соответствии с данной Инструкцией;
 - наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнитного сорбента;
 - наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;
 - наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием.
3. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2,0 мл (при использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» ручным методом экстракции).
4. Микроцентрифуга-вортекс.
5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g (при использовании комплекта реагентов «РИБО-преп»).
6. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева от 25 до 100 °С.
7. Механические дозаторы переменного объема с возможностью дозирования от 2 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл.

8. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.
9. Одноразовые полипропиленовые заворачивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл.
10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 20, до 200 и до 1000 мкл.
11. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без аэрозольного барьера до 200 мкл.
12. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл и наконечников.
13. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
14. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
15. Емкость с дезинфицирующим раствором.

Обратная транскрипция, амплификация с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
 - заворачивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл для приготовления реакционной смеси.
 - тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – при использовании прибора планшетного типа;
 - тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – при использовании прибора роторного типа.
2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 10, 20, 200 и 1000 мкл.
3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл.
4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) или бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
5. Микроцентрифуга-вортекс.

6. Механические дозаторы переменного объема с возможностью дозирования от 0,5 до 10 мкл, от 2 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл.
7. Программируемый амплификатор роторного или планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий не менее 3 независимых каналов флуоресцентной детекции (FAM, HEX, ROX), зарегистрированный в РФ и удовлетворяющий следующим требованиям:
 - точность поддержания температуры не более $\pm 0,4$ °C;
 - скорость нагрева не менее 2 °C/сек;
 - скорость охлаждения не менее 1 °C/сек;
 - для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100 °C.
8. Холодильник от 2 до 8 °C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °C.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служат:

- сыворотка крови;
- лейкоцитарная фракция крови;
- моча.

Сыворотка крови

Взятие венозной крови проводится утром натощак в пробирку (специальную вакуумную систему) без антикоагулянта.

Пробирки с цельной кровью отстаивают при комнатной температуре в течение **30 мин** до полного образования сгустка. Затем центрифугируют при **800-1600 g** в течение **10 мин** при комнатной температуре, после отбирают сыворотку в объеме не менее **1,0 мл** и переносят в отдельную одноразовую пробирку объемом 2,0 мл.

Допускается хранение образцов сыворотки крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °C – в течение 3 суток;

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 3 месяцев;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Недопустимо использование гемолизированной сыворотки крови!

Лейкоцитарная фракция крови

Взятие венозной крови проводится утром натощак в пробирку с К2/К3 ЭДТА. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают.

ВНИМАНИЕ! Гепарин в качестве антикоагулянта использовать нельзя!

Условия хранения и транспортировки цельной крови до предварительной обработки проб и получения лейкоцитарной фракции:

- при температуре 18 - 25 °С – в течение 2 часов;
- при температуре 2 - 8 °С – в течение 3 суток.

Недопустимо замораживание образцов цельной крови!

Моча

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15-25 мл в специальный сухой стерильный флакон или контейнер на 50-60 мл. Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов.

Условия хранения и транспортировки материала до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК

Сыворотка крови

Образцы сыворотки крови не требуют предварительной подготовки.

При использовании комплекта реагентов «РИБО-преп» экстракцию РНК проводят из **100 мкл** сыворотки крови.

При использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» экстракцию РНК проводят из **250 мкл** сыворотки крови.

Лейкоцитарная фракция

Отобрать по **0,25 мл** цельной крови в пробирки на 1,5 мл и внести в пробирки с цельной кровью отдельными наконечниками по **1,0 мл** реагента для селективного лизиса эритроцитов цельной крови (гемолитик). Заккрыть пробирки и аккуратно перемешать содержимое пробирок на вортексе. Оставить пробирки при комнатной температуре на **5 мин**, затем еще раз аккуратно перемешать содержимое пробирок на вортексе и оставить на **5 мин**. Центрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение **2 мин** при **4000 g**. Надосадочную жидкость отобрать с помощью вакуумного отсасывателя, не задевая осадка.

Повторить процедуру 2 раза, начиная с момента добавления гемолитика в объеме **1,0 мл** к исследуемым пробам.

ВНИМАНИЕ! Лейкоцитарная фракция, полученная после предварительной обработки, должна быть немедленно лизирована или заморожена.

Условия хранения предварительно обработанных проб (лейкоцитов крови):

- при температуре от минус 24 до минус 16 °C – в течение 1 года;
- при температуре не выше минус 68 °C – длительно.

При использовании комплекта реагентов «РИБО-преп» экстракцию РНК проводят непосредственно из осадка лейкоцитарной фракции крови.

При использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» для экстракции РНК дополнительно ресуспендируют осадок лейкоцитарной фракции в **250 мкл** стерильного физиологического раствора или фосфатного буферного раствора.

Моча

При использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» образцы мочи не требуют предварительной подго-

товки. Экстракцию РНК проводят из **250 мкл** мочи. При выраженном отклонении показателей анализа мочи от нормы рекомендуется проводить экстракцию РНК из **100 мкл**.

При использовании комплекта реагентов «РИБО-преп» отобрать по **200 мкл** мочи в пробирку на 1,5 мл, используя отдельные наконечники с фильтром. Центрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение **10 мин** при **10 000 g**. Надосадочную жидкость отобрать с помощью вакуумного отсасывателя, оставив примерно 50 мкл надосадочной жидкости и осадок. Полученные образцы использовать для экстракции РНК.

Условия хранения предварительно обработанных проб мочи:

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция РНК из исследуемых образцов,
- обратная транскрипция РНК и амплификации кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» вариант 50

1. **Раствор для лизиса** (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок на 1,5 мл с плотно закрывающимися крышками (включая отрицательный и положительный контроли выделения). Внести в каждую пробирку **10 мкл ВКО IC-R1**. Добавить в

пробирки по **300 мкл раствора для лизиса**. Промаркировать пробирки.

3. В пробирки с **раствором для лизиса** и **ВКО** внести по **100 мкл** подготовленных проб исследуемых образцов сыворотки крови, используя наконечники с аэрозольным барьером.

В случае исследования образцов лейкоцитарной фракции крови и мочи, вносят по **300 мкл раствора для лизиса** и по **10 мкл ВКО IC-R1** непосредственно в пробирки с образцами.

4. В пробирку отрицательного контроля экстракции (**ОК**) внести **100 мкл ОКО**.

В каждую пробирку положительного контроля экстракции и ОТ-ПЦР **ПК HNTV/SEOV** и **ПК DOBV/PUUV** внести по **90 мкл ОКО** и по **10 мкл ПК О РНК HNTV/SEOV** и **ПК О РНК DOBV/PUUV**, соответственно.

5. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе, центрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки и прогреть **5 мин** при температуре **65 °C** в термостате.
6. Снова центрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки.
7. Добавить в пробирки по **400 мкл раствора для преципитации**, тщательно перемешать на вортексе.
8. Центрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение **5 мин** при **11500 g**.
9. Аккуратно отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник **на 200 мкл** без фильтра для каждой пробы.
10. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 3**, плотно закрыть крышки, осторожно промыть осадок, переворачивая пробирки 3-5 раз. Можно провести процедуру одновременно для всех пробирок, для этого необходимо накрыть пробирки в штативе сверху крышкой или другим штативом, прижать их и переворачивать штатив.

11. Центрифугировать при **11500 g** в течение **1-2 мин** на микроцентрифуге.
12. Осторожно, не захватывая осадок, отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на **200 мкл** для каждой пробы.
13. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 4**, плотно закрыть крышки и осторожно промыть осадок, переворачивая пробирки 3-5 раз.
14. Центрифугировать при **11500 g** в течение **1-2 мин** на микроцентрифуге.
15. Осторожно, не захватывая осадок, отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный для каждой пробы наконечник без фильтра на **200 мкл**.
16. Поместить пробирки в термостат при температуре **65 °C** на **5 мин** для подсушивания осадка (при этом крышки пробирок должны быть открыты).
17. В каждую пробирку с пробами экстрагированных образцов, в пробирки положительных (**ПК HNTV/SEOV** и **ПК DOBV/PUUV**) и отрицательного (**ОК**) контролей экстракции добавить по **100 мкл РНК-буфера**.
18. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре **65 °C** на **5 мин**, периодически встряхивая на вортексе.
19. Центрифугировать пробирки при **11500 g** в течение **1 мин** на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК/ДНК. Пробы готовы к последующему исследованию методом амплификации нуклеиновых кислот.

ВНИМАНИЕ! Очищенная РНК/ДНК может храниться при температуре не выше минус 16 °C до 1 месяца и при температуре не выше минус 68 °C – год и более. Не рекомендуется хранить очищенную РНК более 30 мин при температуре плюс 2-8 °C.

Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 и магнитного штатива

1. **Раствор для лизиса Плюс** (если он хранился при температуре от 2 до 8 °C) прогреть при температуре 60 °C до полного растворения кристаллов.

2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок на 1,5 мл с плотно закрывающимися крышками (включая отрицательный и положительный контроли выделения). Промаркировать пробирки.
3. Смешать в отдельной пробирке на 1,5 мл **ВКО IC-R1, Буфер GT и Магнитный сорбент** из расчета на один образец **10 мкл ВКО IC-R1, 15 мкл Буфера GT и 25 мкл Магнитного сорбента**. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на одну точку больше.
4. Внести в пробирки по **50 мкл подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента**.
5. Добавить в пробирки **700 мкл Раствора для лизиса Плюс**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим буфером по **250 мкл подготовленных проб** исследуемых образцов и тщательно перемешать на вортексе.
7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (**ОК**) внести **250 мкл ОКО**. В каждую пробирку положительных контролей экстракции и ОТ-ПЦР **ПК HNTV/SEOV и ПК DOBV/PUUV** внести по **240 мкл ОКО и 10 мкл ПК О РНК HNTV/SEOV и 10 мкл ПК О РНК DOBV/PUUV**, соответственно. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе.
8. Прогреть пробирки **5 мин при температуре 60 °C** в термостате.
9. Кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**. Необходимо открыть крышки до постановки в магнитный штатив, если в магнитном штативе неудобно/невозможно открыть без взмучивания сорбента.
10. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, аккуратно отобрать надосадочную жидкость по внутренней стенке, не задевая осадок, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник на **200 мкл** для каждой пробы.
11. Добавить в пробирки по **850 мкл раствора для отмывки Плюс**, закрыть крышки.

Необходимо поставить пробирки в обычный штатив, если в магнитном штативе неудобно/невозможно плотно закрыть крышки.

12. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на **1 мин.**
13. Открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость, как описано выше.
14. Добавить в пробирки по **600 мкл раствора для отмывки 3**, перемешать на вортексе, затем осадить капли кратким центрифугированием.
15. Поместить пробирки в магнитный штатив на **1 мин**, затем открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость.
16. Добавить в пробирки по **600 мкл раствора для отмывки 4**, перемешать на вортексе, затем осадить капли кратким центрифугированием.
17. Поместить пробирки в магнитный штатив на **1 мин**, затем открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость.
18. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение **10 минут.**
19. Добавить в каждую пробирку с пробами из экстрагированных образцов и в пробирки положительных (**ПК HNTV/SEOV** и **ПК DOBV/PUUV**) и отрицательного (**ОК**) контролей экстракции по **100 мкл Элюирующего буфера.**
20. Поместить пробирки в термостат при температуре **60 °C на 5 мин**, через 2 мин перемешать на вортексе.
21. Кратко осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать **2 мин.**
22. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.
23. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, перенести надосадочную жидкость в новые пробирки.

ВНИМАНИЕ! Очищенная РНК/ДНК может храниться при температуре не выше минус 16 °C до 1 месяца и при температуре

не выше минус 68 °С – год и более. Не рекомендуется хранить очищенную РНК более 30 мин при температуре плюс 2-8 °С.

Экстракция РНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Плюс» вариант 50 и автоматической станции

ВНИМАНИЕ! К работе с автоматической станцией может быть допущен только персонал, прошедший обучение. Программирование последовательности действий, указанной ниже, осуществляется с использованием инструкции к конкретному виду станции.

1. **Раствор для лизиса Плюс** (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов.
2. Смешать в отдельной пробирке **ВКО IC-R1, Буфер GT и Магнитный сорбент** из расчета на один образец **10 мкл ВКО IC-R1, 15 мкл Буфера GT и 25 мкл Магнитного сорбента**. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на одну точку больше.
3. Внести в пробирки или лунки глубоколоночного планшета (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов по **50 мкл подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента**.
4. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, буфера GT и магнитного сорбента **700 мкл Раствора для лизиса Плюс**.
5. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, буфера GT, магнитного сорбента и Лизирующего буфера Плюс по **250 мкл подготовленных проб** исследуемых образцов и тщательно перемешать на вортексе.
6. В пробирку отрицательного контроля (**ОК**) экстракции внести **250 мкл ОКО**. В каждую пробирку положительных контролей экстракции и ОТ-ПЦР **ПК HNTV/SEOV и ПК DOBV/PUUV** внести по **240 мкл ОКО и 10 мкл ПК О РНК HNTV/SEOV и 10 мкл ПК О РНК DOBV/PUUV**, соответственно.
7. Для станций с магнитным штативом поместить на борт автоматической станции емкости с **Раствором для отмывки**

Плюс, Раствором для отмывки 3, Раствором для отмывки 4 и Элюирующим буфером. Для станций с магнитными стержнями внести в лунки соответствующих глубоколоночных планшетов, размещаемых на автоматической станции, по **850 мкл Раствора для отмывки Плюс, 600 мкл Раствора для отмывки 3, 600 мкл Раствора для отмывки 4** и по **100 мкл Элюирующего буфера.**

8. Установить пробирки или планшет с исследуемыми и контрольными образцами, полученными в соответствии с пунктами 5 и 6, на борт автоматической станции.

Далее описана последовательности действий, запрограммированных и выполняемых на борту автоматической станции.

9. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми и контрольными образцами **при температуре 60 °С в течении 5 мин.**
10. Для станций с магнитным штативом поместить пробирки с исследуемыми и контрольными образцами в магнитный штатив на **2 мин.** Для станций с магнитными стержнями опустить в лунки планшета с исследуемыми образцами магнитные стержни на **1 мин.**
11. Для станций с магнитным штативом удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по **850 мкл Раствора для отмывки Плюс.** Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки Плюс.
12. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
13. Для станций с магнитным штативом удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по **600 мкл Раствора для отмывки 3.** Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки 3.

14. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
15. Для станций с магнитным штативом удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по **600 мкл Раствора для отмывки 4**. Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки 4.
16. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
17. Для станций с магнитным штативом высушить магнетизированную силику, оставив открытые пробирки на магнитном штативе в течение **10 минут**. Для станций с магнитными стержнями высушить магнетизированную силику оставив магнитные стержни с намагниченным сорбентом на открытом воздухе в течение **5 минут**.
18. Для станций с магнитным штативом добавить в каждую пробирку с пробами из экстрагированных образцов сыворотки крови и мочи и в пробирки положительных (**ПК HNTV/SEOV** и **ПК DOBV/PUUV**) и отрицательного (**ОК**) контролей выделения по **100 мкл Элюирующего буфера**.
19. Для станций с магнитными стержнями поместить магнитные стержни в лунки планшета с элюирующим буфером. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при температуре **60 °С в течении 5 мин**.
20. Для станций с магнитным штативом перенести раствор в чистые пробирки, не вынимая пробирки с магнитным сорбентом из магнитного штатива. Для станций с магнитными стержнями удалить магнитный сорбент из лунок планшета с помощью магнитных стержней.
21. Полученная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.
ВНИМАНИЕ! Очищенная РНК/ДНК может храниться при температуре не выше минус 16 °С до 1 месяца и при температуре не выше минус 68 °С – год и более. Не рекомендуется хранить очищенную РНК более 30 мин при температуре плюс 2-8 °С.

ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

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

А. Подготовка проб для амплификации

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси-FL (ПЦР-смеси-FL HNTV/SEOV или ПЦР-смеси-FL DOBV/PUUV)**, **5 мкл ОТ-ПЦР-буфера-R**, **0,5 мкл Taq полимеразы**, **0,25 мкл Реввертазы (MMIv)**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. ниже в пункте б) плюс запас на одну реакцию.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

ВНИМАНИЕ! Taq полимеразу, Реввертазу (MMIv) необходимо доставать непосредственно в момент приготовления реакционной смеси и убирать в морозильную камеру сразу же после ее добавления в реакционную смесь.

2. Разморозить пробирки с **ПЦР-смесью-FL HNTV/SEOV** и **ПЦР-смесью-FL DOBV/PUUV**. Перемешать содержимое всех реагентов ПЦР-комплекта, осадить капли на вортексе.
В двух отдельных пробирках подготовить реакционные смеси. Смешать необходимое количество: **ПЦР-смеси-FL HNTV/SEOV** или **ПЦР-смеси-FL DOBV/PUUV**, **ОТ-ПЦР-буфера-R**, **Taq полимеразы**, **Реввертазы (MMIv)**, осадить капли на вортексе.
3. Отобрать необходимое (двукратное) количество пробирок или стрипов для ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных

- проб, рекомендуется расставить в два ряда.
4. В каждый ряд пробирок внести по одной из двух приготовленных реакционных смесей по **15 мкл** на пробу. Неиспользованные остатки реакционных смесей выбросить.
 5. В подготовленные пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл проб РНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

ВНИМАНИЕ! Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

6. Поставить контрольные реакции:
 - а) **положительный контроль экстракции и ОТ-ПЦР (ПК HNTV/SEOV)** – в пробирку с реакционной смесью **ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV** внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ПКО РНК HNTV/SEOV**.
 - б) **положительный контроль экстракции и ОТ-ПЦР (ПК DOBV/PUUV)**– в пробирку с реакционной смесью **ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV** внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ПКО РНК DOBV/PUUV**.
 - в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.
 - г) **отрицательный контроль ОТ-ПЦР (К-)** – в две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл К-**.

ВНИМАНИЕ! Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после соединения реакционной смеси и РНК-пробы и контролей.

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

1. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 5).

Таблица 5 — Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов роторного⁴ и планшетного⁵ типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1.	50	15 мин	-	1
2.	95	15 мин	-	1
3.	95	15 с	-	45
	58	30 с	FAM, JOE (HEX), ROX	
	72	15 с	-	

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Выполнить оптимизацию при 1-м шаге детекции для пробирки с ПЦР-смесью-FL HNTV/SEOV при постановке в амплификатор роторного типа. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

ВНИМАНИЕ! В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки или стрипы (аналогичные используемым) по краям реакционного модуля амплификатора.

- Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
- По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

В. Анализ и интерпретация результатов

- Анализ полученных данных проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 3 каналам в соответствии с таблицей 1 настоящей инструкции.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной

⁴ например, Rotor-Gene Q (QIAGEN)

⁵ например, CFX 96 (Bio-Rad), ДТпрайм (ДНК Технологии)

пробы кДНК значения порогового цикла (C_t) в соответствующей графе таблицы результатов (см. табл. 6).

Таблица 6 – Принципы интерпретации результатов

Наименование ПЦР-смеси	Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора			Результат
	FAM	JOE (HEX)	ROX	
ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV	определено или отсутствует	<u>определено меньше граничного</u>	определено или отсутствует	Обнаружена РНК вируса Хантаан
	определено или отсутствует	определено или отсутствует	<u>определено меньше граничного</u>	Обнаружена РНК вируса Сеул
	<u>определено меньше граничного</u>	отсутствует	отсутствует	НЕ обнаружена РНК вирусов Хантаан и Сеул
	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	Невалидный*
	определено меньше граничного	определено больше граничного	определено больше граничного	Сомнительный**
ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV	определено или отсутствует	<u>определено меньше граничного</u>	определено или отсутствует	Обнаружена РНК вируса Добрава
	определено или отсутствует	определено или отсутствует	<u>определено меньше граничного</u>	Обнаружена РНК вируса Пуумала
	<u>определено меньше граничного</u>	отсутствует	отсутствует	НЕ обнаружена РНК вирусов Добрава и Пуумала
	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	Невалидный*
	<u>определено меньше граничного</u>	определено больше граничного	определено больше граничного	Сомнительный**

* В случае получения **невалидного результата** необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции РНК.

** В случае получения **сомнительного результата** необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции. В случае повторения аналогичного результата образец считать

положительным. При получении отрицательного результата в повторной постановке образец считать сомнительным и рекомендовать повторное взятие материала для анализа.

ВНИМАНИЕ! Граничные значения C_t указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации кДНК в соответствии с табл. 7 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 7 — Контроль достоверности этапов экстракции РНК, обратной транскрипции и амплификация с детекцией в режиме «реального времени»

Наименование ПЦР-смеси	Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора		
			FAM	JOE	ROX
ПЦР-смеси-FL HNTV/SEOV	ПК HNTV/SEOV	Экстракция РНК, ОТ-ПЦР	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного
	OK	Экстракция РНК, ОТ-ПЦР	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	отсутствует
	K–	ОТ-ПЦР	отсутствует	отсутствует	отсутствует
ПЦР-смеси-FL DOBV/PUUV	ПК DOBV/PUUV	Экстракция РНК, ОТ-ПЦР	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного
	OK	Экстракция РНК, ОТ-ПЦР	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	отсутствует
	K–	ОТ-ПЦР	отсутствует	отсутствует	отсутствует

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля экстракции РНК и ОТ-ПЦР (ПК) значение порогового цикла (C_t) по каналам для флуорофоров JOE(HEX) и ROX отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов (начиная с этапа экстракции РНК).
2. Для отрицательного контроля ОТ-ПЦР (K-) определено значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора

FAM и/или JOE(HEX) и/или ROX. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов.

3. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) определено значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора JOE(HEX) и/или JOE(HEX)/ROX. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции РНК.
4. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла (Ct), при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (параметрах базовой линии), требуется повторно провести ПЦР-исследование для этого образца.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 месяцев.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

Транспортирование.

Набор реагентов транспортировать при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Набор реагентов при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Форма 1.

Комплект реагентов «**РИБО-преп**» вариант 50 и прилагаемые к нему контрольные образцы этапа экстракции в составе **ПКО РНК DOBV/PUUV, ПКО РНК HNTV/SEOV, ВКО IC-R1 и ОКО** хранить при температуре **от плюс 2 до плюс 8 °С**.

«**ПЦР-комплект**» вариант FRT-50 F хранить в морозильной камере при температуре **от минус 24 до минус 16 °С**.

Реагент **К**- допустимо хранить при температуре от минус 24 до плюс 8 °С.

ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV и ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV хранить в защищенном от света месте.

Допустимо размораживать и замораживать реагенты «**ПЦР-комплекта**» вариант FRT-50 F не более 3 раз.

Набор реагентов формы 1 при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Форма 2.

Комплект реагентов «**Магно-Сорб-Плюс**» вариант 50 и прилагаемые к нему контрольные образцы этапа экстракции в составе **ПКО РНК DOBV/PUUV, ПКО РНК HNTV/SEOV, ВКО IC-R1 и ОКО** хранить при температуре **от плюс 2 до плюс 8 °С**.

«**ПЦР-комплект**» вариант FRT-50 F хранить в морозильной камере при температуре **от минус 24 до минус 16 °С**.

Реагент **К**- допустимо хранить при температуре от минус 24 до плюс 8 °С.

ПЦР-смесь-FL DOBV/PUUV и ПЦР-смесь-FL HNTV/SEOV хранить в защищенном от света месте.

Допустимо размораживать и замораживать реагенты «**ПЦР-комплекта**» вариант FRT-50 F не более 3 раз.

Набор реагентов формы 2 при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 119121, Российская Федерация, г. Москва, Погодинская ул., д.10 стр. 1, e-mail: promlab@cspfmmba.ru.

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

Руководитель
производственной лаборатории



Ж.Е.Тарасова

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно



Код партии



Содержимого достаточно для проведения <η> тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Изготовитель



Дата изготовления



Знаки опасности