

«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

«25» *февраля* 2026 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для выявления

ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и мутаций,

определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам,

методом ПЦР

«АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP»



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

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАИМЕНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ, МОДЕЛИ ИСПОЛНЕНИЯ	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
СВЕДЕНИЯ ОБ АНАЛИТАХ	5
ПРИНЦИП МЕТОДА	6
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ, КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ И СОСТАВ НАБОРА	8
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	11
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	14
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	18
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	22
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК	23
ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	24
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	31
А. Подготовка проб для амплификации	31
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	32
В. Анализ и интерпретация результатов	34
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	38
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	39
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	40
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	43
ИНФОРМАЦИЯ О ПЕРЕСМОТРЕ	44

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	- полимеразная цепная реакция с детекцией в режиме «реального времени»
MRMP	- макролид-резистентные <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
MP	- <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
ВКО	- внутренний контрольный образец
ГЭ	- геномный эквивалент – количество ДНК бактерии, соответствующее 1 геному
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	- нуклеиновые кислоты
ПК	- положительный контроль экстракции
МУ	- методические указания
ПКО	- положительный контрольный образец
К-	- отрицательный контроль ПЦР
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПИБ	- потенциально интерферирующие вещества
СОП № 78 ПКО MRMP	- стандартный образец предприятия № 78 «Положительный контрольный образец, содержащий фрагменты ДНК <i>M. pneumoniae</i> с целевыми мутациями в гене 23S рРНК»
СОП № 79 ПКО MP/W	- стандартный образец предприятия № 79 «Положительный контрольный образец, содержащий фрагменты ДНК <i>M. pneumoniae</i> без целевых мутаций в гене 23S рРНК»
РУ	- регистрационное удостоверение
СанПиН	- санитарно-эпидемиологические правила и нормы
ФГБУ «ЦСП» ФМБА России	- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАИМЕНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ, МОДЕЛИ ИСПОЛНЕНИЯ

Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР «АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP» (далее – набор реагентов «АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP», набор реагентов) (продолжение см. Приложение 1).

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* (новое таксономическое наименование - *Mycoplasma pneumoniae*) и мутаций в гене 23S рРНК,

определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, в биологическом материале методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени».

Биологическим материалом для исследования набором реагентом форм комплектации 1 и 2 являются образцы мокроты, бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), эндотрахеального аспирата (ТА), мазков со слизистой носо- и ротоглотки. Биологическим материалом для исследования набором реагентов формы комплектации 3 являются образцы мазков со слизистой носо- и ротоглотки.

Функциональное назначение – для диагностики *in vitro*.

Область применения

Клиническая лабораторная диагностика пневмонии, бронхита, инфекций дыхательных путей.

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 клиническими и/или лабораторными признаками инфекций дыхательных путей.

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.

Популяционные, демографические аспекты применения

Выявление ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР проводится пациентам с клиническими признаками инфекций нижних или верхних дыхательных путей (включая пневмонию, бронхит) вне зависимости от их половой и возрастной категории, расовой принадлежности.

СВЕДЕНИЯ ОБ АНАЛИТАХ

Mycoplasma pneumoniae (MP) – один из основных возбудителей внебольничной пневмонии у детей и взрослых. Среди госпитализируемых детей школьного возраста ее доля может составлять от 10 до 40%, увеличиваясь в периоды эпидемического подъема [1, 2]. Тяжелая внебольничная пневмония, требующая госпитализации, характеризуется риском летального исхода, превышающим 25% [2]. В последние годы во всем мире происходят периодические эпидемические подъемы заболеваемости, вызванные *Mycoplasma pneumoniae*, в том числе, эпидемия в Китае в 2023 году, вспышки в США и в различных странах Европы, включая Россию в осенне-зимний период 2023–2024 гг. [1, 3, 4].

Макролиды являются основной группой антибиотиков для лечения микоплазменной пневмонии и единственной группой препаратов, применяемой для лечения этого заболевания у детей. Большую проблему для здравоохранения представляет неуклонный рост частоты устойчивости штаммов *M. pneumoniae* к макролидам, наблюдаемый в различных регионах мира, прежде всего в странах Азии, где доля устойчивых штаммов в некоторых регионах составляет сейчас от 80 до 93 %. В Российской Федерации частота мутаций, приводящих к устойчивости *M. pneumoniae* к макролидам составляет в настоящее время около 25 %, по данным исследования DeMaRes [6, 7]. Рост резистентности *M. pneumoniae* к макролидам требует активного внедрения диагностических тестов для выявления маркеров устойчивости для своевременного определения оптимальной антимикробной терапии при тяжелой инфекции, вызванной данным возбудителем.

Устойчивость *M.pneumoniae* к макролидам формируется за счет специфических мутаций в V домене гена 23S рРНК. Наиболее распространенными являются мутации A2058G и A2059G в нумерации по ДНК *E.coli* (соответствующие позициям A2063G и A2064G в нумерации по *M.pneumoniae*) [6,7], которые обеспечивают высокоуровневую резистентность к 14-ти и 15-членным макролидам. Реже встречается мутация A2062C (A2067C в нумерации по ДНК *M.pneumoniae*). Эти точечные замены в рибосомальной РНК нарушают связывание антибиотика с мишенью, что приводит к клинически значимому снижению эффективности терапии.

1. Рачина С.А. и соавт. Этиология внебольничной пневмонии у взрослых в стационарах РФ после пандемии COVID-19: результаты многоцентрового проспективного исследования. – КМАХ, 2024. – т.26. – №2. – С.141-147. DOI: 10.36488/смас.2024.2.141-147.

2. Torres A. et al. Challenges in severe community-acquired pneumonia: a point-of-view review. – Intensive Care Med, 2019 – № 45 – С. 159-171. DOI: 10.1007/s00134-019-05519-y

3. World Health Organization. Disease outbreak news: upsurge of respiratory illnesses among children in Northern China. – 23 November 2023 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON494>

4. Centers for Disease Control and Prevention. *Mycoplasma pneumoniae* Infection Surveillance and Trends. – sept. 8, 2025 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.cdc.gov/mycoplasma/php/surveillance/index.html>

5. Raghuram A. et al. Description of a Current Outbreak of *Mycoplasma pneumoniae* in the United States. Pathogens 2025, 14, 60. <https://doi.org/10.3390/pathogens14010060>

6. Эйдельштейн И.А. *Mycoplasma pneumoniae* – современные данные о строении, молекулярной биологии и эпидемиологии возбудителя. – КМАХ, 2023. – т. 25. – №4. – С.332-349.

7. Исследование «DeMaRes». Анализ распространенности мутаций резистентности к макролидам и фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium* и *Mycoplasma pneumoniae*. – МАКМАХ, НИИАХ. 2021 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://amrcloud.net/ru/project/demares/>.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип исследования основывается на выявлении ДНК *Mycoplasma pneumoniae* (*Mycoplasma pneumoniae* – прежнее таксономическое наименование) и мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам – A2058G, A2059G и A2062C в гене 23S рРНК *M. pneumoniae*, с помощью мультиплексной ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Нумерация позиций мутаций здесь и далее указана по ДНК *E.coli*, указанные мутации соответствуют A2063G, A2064G и A2067C в нумерации ДНК *M. pneumoniae*.

Исследование включает в себя три этапа: экстракцию ДНК из образцов биологического материала, амплификацию фраг-

ментов ДНК определяемого микроорганизма и гибридационно-флуоресцентную детекцию, которая производится в режиме «реального времени» (одновременно с амплификацией), анализ и интерпретацию результатов.

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

С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится реакция амплификации при помощи специфичных праймеров и фермента Taq-полимеразы с одновременной флуоресцентной детекцией при помощи специфичных флуоресцентно-меченых олигонуклеотидных зондов. К олигонуклеотидным зондам, специфичным к различным ДНК-мишеням, прикреплены различные флуоресцентные метки. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации каждой ДНК-мишени путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала по соответствующему каналу непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени». Результаты амплификации ДНК регистрируются отдельно по пяти каналам флуоресцентной детекции (см. табл. 1).

Таблица 1 – Анализ результатов по каналам для флуорофоров

Канал для флуорофора	FAM	HEX	ROX	Cy5	Cy5.5
ДНК-мишень	Мутация A2058G	ДНК <i>M. pneumoniae</i>	ВКО	Мутация A2059G	Мутации A2062C или A2058G + A2059G
Область амплификации	Участок гена 23S рРНК <i>M. pneumoniae</i>	Участок гена putative lipoprotein <i>M. pneumoniae</i>	искусственно синтезированная последовательность	Участок гена 23S рРНК <i>M. pneumoniae</i>	Участок гена 23S рРНК <i>M. pneumoniae</i>

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ, КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ И СОСТАВ НАБОРА

Набор реагентов выпускается в трех формах комплектации.

Форма 1 включает комплекты реагентов «Муколитик» вариант 100, «РИБО-преп» вариант 100 и «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

Форма 2 включает комплекты реагентов «Муколитик» вариант 100, «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 и «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

Форма 3 включает комплекты реагентов «ДНК Аллегро М» вариант 100 и «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

Все формы комплектации набора реагентов предназначены для проведения полного ПЦР-исследования, включающего предобработку материала, экстракцию ДНК и амплификацию участка ДНК методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Форма 1 предназначена для полного ПЦР-исследования биологического материала человека (мокроты, бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), эндотрахеального аспирата (ТА), мазков со слизистой носо- и ротоглотки) с ручным способом экстракции ДНК.

Форма 2 предназначена для полного ПЦР-исследования биологического материала человека (мокроты, бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), эндотрахеального аспирата (ТА), мазков со слизистой носо- и ротоглотки) как с ручным, так и с автоматическим способом экстракции ДНК.

Форма 3 предназначена для полного ПЦР-исследования биологического материала человека (мазков со слизистой носо- и ротоглотки) с экспресс-методом экстракции ДНК.

Набор реагентов рассчитан на проведение 100 определений, включая контроли.

Комплект поставки:

- Набор реагентов «АмплиТест® M. pneumoniae / MRMP»;
- Инструкция по применению;
- Краткое руководство;
- Вкладыш;
- Паспорт качества.

Состав набора

«Муколитик» вариант 100 – комплект реагентов для предварительной обработки биологического материала (мокроты, эндотрахеального аспирата).

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Муколитик	Прозрачная бесцветная жидкость	100,0	3 флакона

Комплект реагентов рассчитан на предобработку 100 образцов биологического материала.

«РИБО-преп» вариант 100 – комплект реагентов для экстракции тотальной РНК/ДНК из биологического материала, включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Раствор для лизиса	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета ¹	30,0	1 флакон
Раствор для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	20,0	2 флакона
Раствор для отмывки 3	Прозрачная бесцветная жидкость	25,0	2 флакона
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	20,0	1 флакон
РНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	8 пробирок

К комплекту реагентов «РИБО-преп» вариант 100 прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ВКО-М	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на экстракцию РНК/ДНК из 100 образцов, включая контроли.

«Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 – комплект реагентов для экстракции тотальной РНК/ДНК из биологического материала, включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий буфер Комбо	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета ¹	50,0	1 флакон
Буфер GT	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Магнитный сорбент	Суспензия коричневого цвета	1,0	2 пробирки
Раствор для отмывки Комбо-1	Прозрачная бесцветная жидкость	70,0	1 флакон
Раствор для отмывки Комбо-2	Прозрачная бесцветная жидкость	50,0	1 флакон
Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	10,0	1 флакон

К комплекту реагентов «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ВКО-М	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на экстракцию РНК/ДНК из 100 образцов, включая контроли.

«ДНК Аллегро М» вариант 100 – комплект реагентов для проведения предварительной обработки и экстракции тотальной ДНК из мазков со слизистой носо- и ротоглотки экспресс-методом включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Часть 1			
ТС-Аллегро	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	100 пробирок в групповой упаковке
Часть 2			
ЛР-Аллегро	Прозрачная бесцветная жидкость с белым осадком	0,3	100 пробирок в групповой упаковке

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

К комплекту реагентов «ДНК Аллегро М» вариант 100 часть 2 прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ВКО-М	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на экстракцию ДНК из 100 образцов, включая контроли.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – комплект реагентов для проведения амплификации фрагментов ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и детекции мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени», включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Часть 1			
ПЦР-смесь-FL MP/MRMP	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета	1,2	1 пробирка
ПЦР-буфер-М	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка
Таq полимераза	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка
Часть 2			
К+ MP/MRMP	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 100 реакций амплификации (всего 100 тестов), включая контроли.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2 – Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP»

Вид исследуемого материала	Комплект реагентов для экстракции ДНК	Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл
Мокрота, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), эндотрахеальный аспират (ТА), мазки со слизистой носо- и ротоглотки	«Магно-Сорб-Комбо» вариант 100	1×10^3
	«РИБО-преп» вариант 100	1×10^3
Мазки со слизистой носо- и ротоглотки	«ДНК Аллегро М» вариант 100	5×10^3

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

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает фрагменты ДНК заявленных микроорганизмов.

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании СОП № 79 ПКО МР/М, ДНК штаммов следующих микроорганизмов в концентрации не менее 1×10^6 ГЭ/мл: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus haemolyticus* ATCC 29970, *Streptococcus agalactiae* ATCC 134197, *Streptococcus pneumoniae* 6319, а также геномной ДНК человека.

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов и ДНК человека неспецифических реакций выявлено не было. При исследовании СОП № 79 ПКО МР/М, содержащего фрагменты ДНК *Mycoplasma pneumoniae* без целевых мутаций, обнаружена ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и не обнаружены мутации, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам.

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Для контроля эффективности экстракции ДНК и реакции амплификации в наборе реагентов предусмотрено использование внутреннего контрольного образца (ВКО-М), который

добавляется в каждый биологический образец на этапе экстракции нуклеиновых кислот. По окончании реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов ДНК ВКО, говорит о достаточной эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибирования ПЦР.

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

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции выбрали эндогенные (гемоглобин, муцин) и экзогенные (хлоргексидин, дексаметазон) вещества, которые могут присутствовать в клинических образцах человека (мокроте, бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ), эндотрахеальном аспирате (ТА), мазках со слизистой носо- и ротоглотки). Для изучения влияния потенциально интерферирующих веществ (ПИВ) на полученные результаты испытываемым набором реагентов протестированы модельные образцы в присутствии и в отсутствии указанных выше эндогенных и экзогенных ПИВ.

Модельные образцы представляли собой образцы биологического материала, не содержавшие ДНК *M. pneumoniae*, контаминированные разведением СОП № 78 ПКО MRMP до концентрации 5×10^3 ГЭ/мл (для форм 1 и 2) и 2×10^4 ГЭ/мл (для формы 3).

Таблица 3 – Оценка влияния потенциально интерферирующих веществ (ПИВ)

Биоматериал	Вид ПИВ	Потенциально интерферирующие вещества	Концентрация ПИВ	Наличие интерферирующего эффекта
Мазки, мокрота, БАЛ, ТА	Эндогенные вещества	Муцин	2 мг/мл	Не обнаружено
		Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Хлоргексидин	0,05 %	Не обнаружено
		Дексаметазон	1,53 ммоль/л	Не обнаружено

Воспроизводимость

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

Воспроизводимость результатов определения как ДНК *M. pneumoniae*, так и целевых мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам составила 100 %.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностические характеристики (чувствительность и специфичность) набора реагентов определены в ходе клинических испытаний.

Таблица 4 – Результаты тестирования образцов биологического материала набором реагентов «АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP» форм 1, 2 и 3, относительно метода сравнения

Вид исследуемого биоматериала (общее количество образцов)	Аналит	Результаты применения испытываемого набора реагентов	Результаты применения метода сравнения	
			Обнаружено	Не обнаружено
Мазки со слизистой носо- и ротоглотки (77 образцов)	ДНК <i>M. pneumoniae</i>	Обнаружено	39	0
		Не обнаружено	0	38
	Мутации в гене 23S рРНК, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	Обнаружено	30	0
		Не обнаружено	0	47
Мокрота (67 образцов)	ДНК <i>M. pneumoniae</i>	Обнаружено	35	0
		Не обнаружено	0	32
	Мутации в гене 23S рРНК, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	Обнаружено	28	0
		Не обнаружено	0	39
Бронхоальвеолярный лаваж (60 образцов)	ДНК <i>M. pneumoniae</i>	Обнаружено	30	0
		Не обнаружено	0	30
	Мутации в гене 23S рРНК, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	Обнаружено	25	0
		Не обнаружено	0	35
Эндотрахеальный аспират (62 образца)	ДНК <i>M. pneumoniae</i>	Обнаружено	31	0
		Не обнаружено	0	31
	Мутации в гене 23S рРНК, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	Обнаружено	26	0
		Не обнаружено	0	36

Таблица 5 – Диагностические характеристики испытываемого набора реагентов «АмплиТест® M. pneumoniae / MRMP»

Вид исследуемого биоматериала	Выявляемый анализ	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Мазки со слизистой носо- и ротоглотки	ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100 % (91,0 - 100 %)	100 % (90,8 - 100 %)
	Мутации, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	100 % (88,4 - 100 %)	100 % (92,5 - 100 %)
Мокрота	ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100 % (90,0 - 100 %)	100 % (89,1 - 100 %)
	Мутации, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	100 % (87,7 - 100 %)	100 % (91,0 - 100 %)
Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)	ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100 % (88,4 - 100 %)	100 % (88,4 - 100 %)
	Мутации, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	100 % (86,3 - 100 %)	100 % (90,0 - 100 %)
Эндотрахеальный аспират (ТА)	ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100 % (88,8 - 100 %)	100 % (88,8 - 100 %)
	Мутации, определяющие устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам	100 % (86,8 - 100 %)	100 % (90,3 - 100 %)

Клинические испытания проведены с использованием следующих приборов: Rotor-Gene Q (РУ № ФСЗ 2010/07595), С1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (РУ № ФСЗ 2008/03399), «ДТпрайм» (РУ № ФСР 2011/10229).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Исследования по выявлению в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней должны проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил 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».

Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Исследования проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

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

- 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, упаковку², биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует

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

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) 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

Перечисленные ниже дополнительные материалы и оборудование, относящиеся к категории медицинских изделий и зарегистрированные на территории Российской Федерации или Евразийского экономического союза, не имеют ограничений по совместному использованию с данным набором реагентов, кроме позиций, для которых указаны конкретные примеры.

Взятие исследуемого материала

1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 2,0 мл с крышкой.

2. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный.
3. Реагент для взятия, транспортировки и хранения мазков из верхних дыхательных путей «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков».
4. Зонд-тампон для отбора, транспортировки и хранения биологических проб.

Предварительная подготовка исследуемого материала

1. 0,9 % раствор натрия хлорида (стерильный физиологический раствор) или фосфатный буферный раствор (PBS).
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 100, до 200, до 1000 и до 5000 мкл.
4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл и/или 5 мл.
5. Микроцентрифуга-вортекс.
6. Механические дозаторы переменного объема с возможностью дозирования от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл, от 1000 мкл до 5000 мкл.
7. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс г.
8. Холодильник от плюс 2 до плюс 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 ДНК из исследуемых образцов

1. Ламинарный бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева от 25 до 100 °С.
3. Автоматическая станция для экстракции НК, зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям (при использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100):

- 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.
4. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2,0 мл (при использовании комплекта реагентов «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 ручным методом)
 5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс г.
 6. Микроцентрифуга-вортекс.
 7. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости.
 8. Механические дозаторы переменного объема с возможностью дозирования от 2 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл.
 9. Одноразовые полипропиленовые закручивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл.
 10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 20, до 100, 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.

Полимеразная цепная реакция с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
 - закручивающиеся 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 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 фильтром до 10, до 100 или до 200 мкл, до 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 5 независимых каналов флуоресцентной детекции (для флуорофоров FAM, HEX, ROX, Cy5 и Cy5.5), зарегистрированный в РФ и удовлетворяющий следующим требованиям:
 - для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100 °С;
 - точность поддержания температуры не более $\pm 0,4$ °С;
 - скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
 - скорость охлаждения не менее 1 °С/сек
 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. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служат:

- бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ);
- эндотрахеальный аспират (ТА);
- мокрота;
- мазки со слизистой носо- и ротоглотки.

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала – бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), эндотрахеального аспирата (ТА), мокроты, мазков со слизистой носо- и ротоглотки - осуществляется согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» или актуальной версией данного документа, действующего на территории Российской Федерации на момент проведения исследований.

Мазки со слизистой носо- и ротоглотки

Взятие мазков со слизистой носо- и ротоглотки провести в пробирки с **ТС-Аллегро**, при использовании формы 1 или формы 2 набора реагентов также допустимо поместить мазки в пробирки с транспортной средой для хранения и транспортировки респираторных мазков.

Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки рекомендуется совмещать в одной пробирке и исследовать как один образец. Для этого берут мазки разными зондами сначала со слизистой нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, при этом рабочие концы зондов после взятия мазков у пациента помещаются в одну пробирку с **ТС-Аллегро** и исследуются как один образец.

Мазки со слизистой нижнего носового хода

Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание. Для взятия мазков используют сухие стерильные зонды из полистирола с вязкими тампонами. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину до носоглотки, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина

введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (5–6 см). После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с вязким тампоном) помещают в пробирку с **ТС-Аллегро** или при использовании форм 1 и 2 в пробирку с транспортной средой для хранения и транспортировки респираторных мазков. Конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают и маркируют.

Мазки с задней стенки ротоглотки

Образцы берут сухими стерильными зондами с вязкими тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с вязким тампоном) помещают в пробирку с **ТС-Аллегро**, при использовании формы 1 или формы 2 набора реагентов также допустимо помещать мазки в пробирку с транспортной средой для хранения и транспортировки респираторных мазков. Конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают, маркируют.

Допускается хранение материала до проведения исследования:

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – длительно;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 сут.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Эндотрахеальный аспират (ТА)

Для образцов аспирата из трахеи проводится предварительная обработка при наличии сгустков и выраженной вязкости с помощью **Муколитика** в соотношении **1:1** (1 объем **Муколитика** на 1 объем ТА), перемешивания и инкубирования при комнатной температуре в течение **5 минут**. Полученную суспензию использовать для экстракции ДНК, отбирают **100 мкл** образца.

Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)

Образцы бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) перемешать переворачиванием в исходной емкости. Автоматическим доза-

тором, используя наконечник с фильтром, отобрать **1 мл** образца и перенести в пробирку объемом **1,5 мл**. Центрифугировать **10 мин** при **10 000 g** (13 тыс об/мин на центрифуге MiniSpin, Eppendorf). Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, удалить надосадочную жидкость, оставляя около **200 мкл** жидкости, не захватывая осадок и используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра. Ресуспендировать осадок в оставшейся надосадочной жидкости путем перемешивания на вортексе, осадить капли кратким центрифугированием. Для экстракции ДНК отбирают **100 мкл** образца.

Мокрота

В емкость с мокротой добавляют **Муколитик** в соотношении **1:1** (1 часть **Муколитика** к 1 части мокроты), ориентируясь по градуировке емкости. В процессе разжижения мокроты (**10 - 15 мин**) емкость периодически встряхивают. Затем автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают **1 мл** разжиженной мокроты, помещают в пробирку с закручивающейся крышкой или в микроцентрифужную пробирку с защелкой на **1,5 мл**. Для экстракции ДНК отбирают **100 мкл** образца.

Мазки со слизистой носо- и ротоглотки

Содержимое закрытой пробирки перемешать на вортексе и центрифугировать в течение **5 с** при **5 тыс об/мин** на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки. Для экстракции ДНК отбирают **100 мкл** образца (при использовании форм 1 и 2) или **30 мкл** образца (при использовании формы 3).

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых образцов,
- амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

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

Экстракция ДНК с использованием комплекта реагентов «ДНК Аллегро М» вариант 100

1. Отобрать необходимое количество полипропиленовых пробирок, содержащих **ЛР-Аллегро**, включая отрицательный контроль экстракции.
2. Осадить капли с крышек пробирок кратким центрифугированием.
3. Внести в пробирки с **ЛР-Аллегро** по **10 мкл ВКО-М**.
4. Используя отдельные наконечники с фильтром внести в пробирки с **ЛР-Аллегро** и **ВКО** по **30 мкл** подготовленных мазков со слизистой носо- и ротоглотки. В пробирку отрицательного контроля экстракции (**ОК**) внести **30 мкл ОКО**.
5. Плотно закрыть крышки пробирок, содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе, процентрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки, и инкубировать в предварительно разогретом до температуры **95 °С** термостате в течение **5 минут**.
6. Перенести в штатив прогретые пробирки, а затем тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе.
7. Процентрифугировать пробирки в течение **2 минут** при **10 000 g** (**13 тыс. об/мин** на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf).
8. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к последующему исследованию методом амплификации нуклеиновых кислот.

ВНИМАНИЕ! Не допускать попадания белого осадка из **ЛР-Аллегро** в пробирки с ПЦР-смесью. Осадок может ингибировать ПЦР.

Экстракция ДНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 и автоматической станции для экстракции НК

1. **Лизирующий буфер Комбо** (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-М**, **Буфер GT** и **Магнитный сорбент** из расчета на один образец **10 мкл ВКО-М**, **10 мкл Буфера GT** и **20 мкл Магнитного сорбента**. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на

- одну пробу больше, и один повтор отрицательного контроля экстракции.
3. Внести в пробирки или лунки глубоколоночного планшета (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольного образцов по **40 мкл** подготовленной смеси **ВКО-М, буфера GT и Магнитного сорбента**.
 4. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, Буфера GT и магнитного сорбента по **500 мкл Лизирующего буфера Комбо**.
 5. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО-М, буфера GT, магнитного сорбента и Лизирующего буфера Комбо по **100 мкл исследуемых образцов**.
 6. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл** ОК.
 7. Поместить на борт автоматической станции, в зависимости от ее модели, емкости с **Раствором для отмывки Комбо-1, Раствором для отмывки Комбо-2 и Элюирующим буфером**, или для станций с магнитными стержнями внести в лунки соответствующих размещаемых на автоматической станции глубоколоночных планшетов по **700 мкл Раствора для отмывки Комбо-1, 500 мкл Раствора для отмывки Комбо-2 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.
 9. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при температуре **60°C** в течение **5 мин**.
 10. Для станций с магнитным штативом поместить пробирки с исследуемыми и контрольными образцами в магнитный штатив на **1 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 **700 мкл Раствора для отмывки Комбо-1**. Для

станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с **раствором для отмывки Комбо-1**.

12. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
13. Повторить пункт 10.
14. Для станций с магнитным штативом удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по **500 мкл Раствора для отмывки Комбо-2**. Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с **раствором для отмывки Комбо-2**.
15. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
16. Повторить пункт 10.
17. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе или оставив магнитные стержни с намагниченным сорбентом на открытом воздухе в течение **5 минут**.
18. Добавить в пробирки по **100 мкл Элюирующего буфера** или поместить магнитные стержни в лунки планшета с **Элюирующим буфером**.
19. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при температуре **60 °С в течение 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.

Полученная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

Экстракция РНК/ДНК с использованием комплекта реагентов «Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 вручную с использованием магнитного штатива

1. **Лизирующий буфер Комбо** (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов.

2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок на 1,5 мл с плотно закрывающимися крышками (включая отрицательный контроль экстракции). Промаркировать пробирки.
3. Смешать в отдельной пробирке на 1,5 мл **ВКО-М, Буфер GT и Магнитный сорбент** из расчета на один образец **10 мкл ВКО-М, 10 мкл Буфера GT и 20 мкл Магнитного сорбента**. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на одну точку больше.
4. Внести в пробирки по **40 мкл подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента**.
5. Добавить в пробирки по **500 мкл Лизирующего буфера Комбо**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим буфером по **100 мкл исследуемого образца** и тщательно перемешать на вортексе.
7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (**ОК**) внести **100 мкл ОКО**.
8. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе.
9. Прогреть пробирки **5 мин при температуре 60 °С** в термостате.
10. Кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на **1 мин**.
Примечание. Необходимо открыть крышки до постановки в магнитный штатив, если в магнитном штативе их неудобно/невозможно открыть без взмучивания сорбента.
11. 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.
12. Добавить в пробирки по **700 мкл раствора для отмывки Комбо-1**, закрыть крышки.
Примечание. Необходимо поставить пробирки в обычный штатив, если в магнитном штативе неудобно/невозможно плотно закрыть крышки.

13. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на **1 мин.**
14. Открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость как описано выше.
15. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки Комбо-2**, перемешать на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.
16. Поместить пробирки в магнитный штатив на **1 мин**, затем открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость.
17. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение **5-10 минут.**
18. Добавить в пробирки по **100 мкл Элюирующего буфера** и перемешать на вортексе.
19. Поместить пробирки в термостат при температуре **60 °С** на **5 мин**, через **2 мин** перемешать на вортексе.
20. Кратко осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать **2 мин.**
21. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

Экстракция РНК/ДНК с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» вариант 100

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 контроль экстракции). Внести в каждую пробирку по **10 мкл ВКО-М**. Добавить в пробирки по **300 мкл Раствора для лизиса**. Промаркировать пробирки.
3. В пробирки с **раствором для лизиса** и **ВКО-М** внести по **100 мкл** подготовленных проб исследуемых образцов, используя наконечники с аэрозольным барьером.
4. В пробирку отрицательного контроля экстракции (**ОК**) внести **100 мкл ОКО**.

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 °С** 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 **10 000 g** (**13 тыс об/мин** на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf).
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 **10 000 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 **10 000 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 °С** на **5 мин** для подсушивания осадка (при этом крышки пробирок должны быть открыты).
17. В каждую пробирку добавить по **70 мкл РНК-буфера**. Допускается увеличение объема элюции до 90 мкл.
18. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре **65 °С** на **5 мин**, периодически встряхивая на вортексе.
19. Центрифугировать пробирки при **10000 g** в течение **1 мин** на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК/ДНК. Пробы готовы к последующему исследованию методом амплификации нуклеиновых кислот.

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 ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

А. Подготовка проб для амплификации

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смесь-FL MP/MRMP**, **5 мкл ПЦР-буфера-М**, **0,5 мкл Taq полимеразы**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в пункте 7) плюс запас на одну реакцию.

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

2. Разморозить пробирки с **ПЦР-смесью-FL MP/MRMP**, **ПЦР-буфером-М**. Перемешать содержимое всех реагентов ПЦР-комплекта, осадить капли на вортексе.
3. В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь.

- Смешать необходимое количество: **ПЦР-смеси-FL, ПЦР-буфера-М, Taq полимеразы**, перемешать смесь на вортексе, осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для ПЦР исследуемых и контрольных проб ДНК.
 5. В каждую пробирку внести по **15 мкл** приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси утилизировать.
 6. В подготовленные пробирки с реакционной смесью внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.
 7. Поставить контрольные реакции:
 - а) **отрицательный контроль ПЦР (К-)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К-**.
 - б) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.
 - в) **положительный контроль ПЦР (К+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К+ МР/МРМР**.

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

ВНИМАНИЕ! Провести ПЦР после соединения реакционных смесей, ДНК-проб и контролей.

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

1. При использовании программного обеспечения для управления приборами для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, а также анализа полученных с приборов данных «FRT Manager» (далее – ПО «FRT Manager») (ООО «ИЛС», Россия; РУ № РЗН 2019/8870) постановка ПЦР осуществляется согласно руководству пользователя к указанному ПО и методическим рекомендациям по проведению амплификации и анализу результатов при помощи ПО «FRT Manager». В случае запуска постановки с помощью ПО амплификатора необходимо запрограммировать амплификатор с си-

стемой детекции в режиме «реального времени» для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 6 и вкладыш, прилагаемый к данному набору реагентов).

Таблица 6 – Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов роторного³ и планшетного⁴ типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	95	15 мин	–	1
2	95	10 сек	–	45
	60	20 сек	FAM (Green), HEX (JOE, Yellow, VIC), ROX (Orange), Cy5 (Red), Cy5.5 (Crimson)	
	72	10 сек	–	

Примечание. Для амплификаторов ДТпрайм рекомендуется в конце программы амплификации (после блока циклирования) добавить стадию хранения при температуре 20 °C (для охлаждения блока перед извлечением пробирок).

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. 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 с помощью ПО «FRT Manager» или ПО амплификатора.
- По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

³ Rotor-Gene 6000 (QIAGEN), Rotor-Gene Q (QIAGEN).

⁴ CFX 96 (Bio-Rad), ДТпрайм (ДНК Технология, Россия).

В. Анализ и интерпретация результатов

ВНИМАНИЕ! Результаты ПЦР-исследования должны учитываться лечащим врачом в комплексе клинических и лабораторных данных для диагностики заболевания.

При использовании для запуска постановки ПО «FRT Manager» анализ полученных данных и интерпретация результатов проводятся автоматически.

При работе с ПО амплификатора, анализ полученных данных проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют графики накопления флуоресцентного сигнала по пяти каналам в соответствии с табл. 1 настоящей инструкции.

Результаты интерпретируются на основании наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линии (указан во вкладыше к набору реагентов), что определяет наличие или отсутствие значения порогового цикла C_t для данной пробы ДНК.

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

Таблица 7 – Интерпретация результатов ПЦР-исследования

Значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора					Результат
FAM (Green)	HEX (JOE, VIC, Yellow)	ROX (Orange)	Cy5 (Red)	Cy5.5 (Crimson)	
отсутствует	отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	отсутствует	НЕ обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	отсутствует	Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , НЕ обнаружено мутаций, определяющих устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам
<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	определено или отсутствует	отсутствует	отсутствует	Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , Обнаружена мутация, определяющая устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам (A2058G)
отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	определено или отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	определено или отсутствует	Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , Обнаружена мутация, определяющая устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам (A2059G)
отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	определено или отсутствует	отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	Обнаружена ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , Обнаружена мутация, определяющая устойчивость <i>M. pneumoniae</i> к макролидам
отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или определено больше граничного	Невалидный*
<u>определено</u> больше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного			
отсутствует или определено больше граничного	отсутствует или 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 *Ct* 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. 8 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 8 — Результаты для контролей различных этапов исследования

Контроль	Контролируемый этап ПЦР исследований	Значение порогового цикла (<i>Ct</i>) для флуорофора				
		FAM (Green)	HEX (JOE, VIC, Yellow)	ROX (Orange)	Cy5 (Red)	Cy5.5 (Crimson)
OK	Экстракция ДНК	отсутствует	отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	отсутствует
K-	ПЦР	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
K+	ПЦР	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного	не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного	<u>определено</u> меньше граничного

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля ПЦР (K+) значение *Ct* по каналам для флуорофоров FAM и/или HEX, и/или Cy5 и/или Cy5.5 отсутствует или превышает указанное граничное значение. Необходимо повторить амплификацию для всех образцов.

2. Для отрицательного контроля ПЦР (K-) определено значение порогового цикла (*Ct*) менее граничного по одному или нескольким каналам. 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 амплификацию для всех образцов.

3. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла (C_t), 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.

В случае получения **невалидного результата** или **сомнительного результата** необходимо провести повторное исследование соответствующего образца, начиная с этапа выделения ДНК.

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.

Набор реагентов хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С, кроме реагентов, входящих в состав части 1 «ПЦР-комплекта» вариант FRT-100 F. Часть 1 «ПЦР-комплекта» вариант FRT-100 F хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С.

ПЦР-смесь-FL MP/MRMP хранить в защищенном от света месте. **К-** допустимо хранить при температуре от минус 24 до плюс 8 °С.

Допустимо размораживать и замораживать реагенты «ПЦР-комплекта» вариант FRT-100 F не более 3 раз.

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@cspfmba.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 регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Руководитель
производственной лаборатории



Ж.Е.Тарасова

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

НАИМЕНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ, МОДЕЛИ ИСПОЛНЕНИЯ

Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР «АмплиТест® *M. pneumoniae* / MRMP».

Выпускается в трех формах комплектации/моделях исполнения:

Форма 1 включает:

«Муколитик» вариант 100 – комплект реагентов для предварительной обработки биологического материала (мокроты, эндотрахеального аспирата);

«РИБО-преп» вариант 100 – комплект реагентов для экстракции тотальной РНК/ДНК из биологического материала;

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – комплект реагентов для проведения амплификации фрагментов ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и детекции мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»;

Эксплуатационная документация: инструкция по применению – 1 шт.; краткое руководство – 1 шт.; вкладыш – 1 шт.; паспорт качества – 1 шт.

Состав комплектов реагентов, входящих в форму 1.

«Муколитик» вариант 100 – включает:

Муколитик – 100,0 мл × 3.

«РИБО-преп» вариант 100 – включает:

Раствор для лизиса – 30,0 мл × 1;

Раствор для преципитации – 20,0 мл × 2;

Раствор для отмывки 3 – 25,0 мл × 2;

Раствор для отмывки 4 – 20,0 мл × 1;

РНК-буфер – 1,2 мл × 8;

ОКО – 1,2 мл × 1;

ВКО-М – 1,2 мл × 1.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – включает:

Часть 1:

ПЦР-смесь-FL MP/MRMP – 1,2 мл × 1;

ПЦР-буфер-М – 0,6 мл × 1;

Тaq полимераза – 0,06 мл × 1.

Часть 2:

К+ MP/MRMP – 0,2 мл × 1;

К- – 0,2 мл × 1.

Форма 2 включает:

«Муколитик» вариант 100 – комплект реагентов для предварительной обработки биологического материала (мокроты, эндотрахеального аспирата);

«Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 – комплект реагентов для экстракции тотальной РНК/ДНК из биологического материала;

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – комплект реагентов для проведения амплификации фрагментов ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и детекции мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»;

Эксплуатационная документация: инструкция по применению – 1 шт.; краткое руководство – 1 шт.; вкладыш – 1 шт.; паспорт качества – 1 шт.

Состав комплектов реагентов, входящих в форму 2.

«Муколитик» вариант 100 – включает:

Муколитик – 100,0 мл × 3.

«Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 – включает:

Лизирующий буфер Комбо – 50,0 мл × 1;

Буфер GT – 1,0 мл × 1;

Магнитный сорбент – 1,0 мл × 2;

Раствор для отмывки Комбо-1 – 70,0 мл × 1;

Раствор для отмывки Комбо-2 – 50,0 мл × 1;

Элюирующий буфер – 10,0 мл × 1;

ОКО – 1,2 мл × 1;

ВКО-М – 1,2 мл × 1.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – включает:

Часть 1:

ПЦР-смесь-FL MP/MRMP – 1,2 мл × 1;

ПЦР-буфер-М – 0,6 мл × 1;

Тақ полимераза – 0,06 мл × 1.

Часть 2:

К+ MP/MRMP – 0,2 мл × 1;

К- – 0,2 мл × 1.

Форма 3 включает:

«ДНК Аллегро М» вариант 100 – комплект реагентов для проведения предварительной обработки и экстракции тотальной ДНК из мазков со слизистой носоглотки экспресс-методом;

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – комплект реагентов для проведения амплификации фрагментов ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и детекции мутаций, определяющих устойчивость *M. pneumoniae* к макролидам, методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»;

Эксплуатационная документация: инструкция по применению – 1 шт.; краткое руководство – 1 шт.; вкладыш – 1 шт.; паспорт качества – 1 шт.

Состав комплектов реагентов, входящих в форму 3.

«ДНК Аллегро М» вариант 100 – включает:

Часть 1:

ТС-Аллегро – 1,0 мл × 100 в групповой упаковке.

Часть 2:

ЛР-Аллегро – 0,3 мл × 100 в групповой упаковке;

ОКО – 1,2 мл × 1;

ВКО-М – 1,2 мл × 1.

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – включает:

Часть 1:

ПЦР-смесь-FL MP/MRMP – 1,2 мл × 1;

ПЦР-буфер-М – 0,6 мл × 1;

Тaq полимераза – 0,06 мл × 1.

Часть 2:

К+ MP/MRMP – 0,2 мл × 1;

К- – 0,2 мл × 1.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Код партии



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Дата изменения



Температурный диапазон



Изготовитель



Знаки опасности



Осторожно



Содержимого достаточно для проведения <n> тестов



Использовать до



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



Не допускать воздействия солнечного света



Дата изготовления

ИНФОРМАЦИЯ О ПЕРЕСМОТРЕ

Дата	Причина
25.02.2026 г.	Добавлено «Приложение 1 Наименование медицинского изделия, модели исполнения»
	В раздел «В. Анализ и интерпретация результатов» добавлено предупреждение: ВНИМАНИЕ! Результаты ПЦР-исследования должны учитываться лечащим врачом в комплексе клинических и лабораторных данных для диагностики заболевания.
	В раздел «Дополнительные материалы и оборудование» добавлено: перечисленные ниже дополнительные материалы и оборудование, относящиеся к категории медицинских изделий и зарегистрированные на территории Российской Федерации или Евразийского экономического союза, не имеют ограничений по совместному использованию с данным набором реагентов, кроме позиций, для которых указаны конкретные примеры.