АМПЛИТЕК

Amplitech TBI (R)

Набор реагентов для качественного определения РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся человеку иксодовыми клещами, Tick-borne encephalitis virus, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris* методом ОТ-ПЦР/ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech TBI (R)) по ТУ 21.20.23-038-19926214-2024

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 REF P027-1 Σ 48

Форма 2 REF P027-2 Σ 96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3
1 НАЗНАЧЕНИЕ 5
2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ 5
3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ 5
4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ 5
5 ФОРМЫ ВЫПУСКА 5
6 СОСТАВ 6
7 ПРИНЦИП МЕТОДА 7
7.1 Характеристика положительного контроля ПК Т 7
8 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 7
9 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 8
10 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 10
11 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 11
11.1 Автоматизированная экстракция НК и подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 и автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции 11
11.2 Экстракция НК и ручная подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 или 2. Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции 13
12 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ 14
13 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ 15
14 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 17
14.1 Контроли, используемые в процессе исследования 17
14.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации 17
14.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований 17
15 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 17
15.1 Предел обнаружения 17
15.2 Аналитическая специфичность 18
15.3 Прецизионность измерения 19
15.4 Диагностические характеристики 19
16 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА 20
16.1 Срок годности 20
16.2 Хранение 20
16.3 Транспортирование 20
16.4 Эксплуатация 20
17 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ 20
18 БИБЛИОГРАФИЯ 21
19 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ 21
20 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 22
21 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА 22
22 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 22

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 15.02.24 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного определения РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся человеку иксодовыми клещами, Tick-borne encephalitis virus, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris* методом ОТ-ПЦР/ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech TBI (R)) по ТУ 21.20.23-038-19926214-2024» (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech TBI (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

2. **Научная обоснованность**

К наиболее распространенным инфекциям, передаваемым иксодовыми клещами, относят Tick-borne encephalitis virus (TBEV), *Borrelia burgdorferi* s.l.*, Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris*. Перечисленные микроорганизмы являются этиологическими агентами таких серьезных заболеваний, как клещевой вирусный энцефалит (КЭ), болезнь Лайма (клещевой боррелиоз), моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ). Начальные симптомы указанных инфекций обычно похожи и неспецифичны, и часто имеют общую симптоматику с острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ): лихорадка неясной этиологии, головные и мышечные боли, недомогание [1, 2] Во всех этих случаях, для постановки точного диагноза, необходимо провести клиническую диагностику, дополненную различными методам лабораторной диагностики. ПЦР в реальном времени обладает высокой чувствительностью, специфичностью и объективностью полученных результатов. Набор реагентов «Amplitech TBI (R)» позволяет выявлять, дифференцировать РНК/ДНК указанных микроорганизмов в рамках одной реакции.

Anaplasma phagocytophilum – это грамотрицательный внутриклеточный облигатный патоген, передающийся иксодовыми клещами и вызывающий анаплазмоз мелкого и крупного рогатого скота и ГАЧ. Наиболее частые симптомы ГАЧ – лихорадка неясной этиологии, головные и мышечные боли, общее недомогание – проявления, которые схожи с симптомами ОРВИ. Кроме описанных симптомов, гораздо реже встречаются тошнота, рвота, боли в брюшной области, анорексия, диарея, боли в суставах, кашель. Поскольку ГАЧ – потенциально серьёзная или даже летальная инфекция, ранняя диагностика и лечение имеют жизненно важное значение [3].

Ehrlichia – маленькие (около 0,5 мкм) облигатные внутриклеточные бактерии, которые обитают в виде микроколоний в вакуолях макрофагов или полиморфноядерных лейкоцитов. Одна цитоплазматическая вакуоль содержит от 1 до 5 бактерий, и каждая клетка может содержать более 400 вакуолей [1]. Эти бактерии переносятся клещами от зараженных жвачных животных, оленей и грызунов. Так как эрлихии живут в слюне клеща, то заражение происходит при присасывании клеща к

человеку. Два вида эрлихий — *E. chaffeensis* и *E. muris* считаются возбудителями МЭЧ. Для МЭЧ характерен общий инфекционный синдром, который начинается с высокой (до 38-40°С) температуры и озноба, а также слабости и головной боли. У многих пациентов присутствуют такие симптомы, как першение в горле, заложенность носа, непродуктивный кашель, гиперемия лица, инъекция сосудов склер и конъюнктив, гиперемия слизистых оболочек ротоглотки. Отсутствие патогномоничных симптомов в клинической картине МЭЧ существенно затрудняет определение инфекции без ее лабораторного подтверждения.

Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.) – это комплекс, состоящий из различных групп бактерий, распространенных по всему миру, и который включает в себя 18 видов спирохет. Для человека патогенными являются три вида: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* и *B. afzelii*. *B. burgdorferi sensu stricto* ассоциируется с преимущественным поражением суставов, *B. garinii* - с развитием менингорадикулита, *B. afzelii* - с кожными поражениями [1].

B. burgdorferi – грамотрицательная спиралевидная бактерия со множеством эндофлагелл, с помощью которых она может активно передвигаться. Длина клетки *B. burgdorferi* варьирует от 10 до 30 мкм, ширина - от 0,2 до 0,5 мкм [1]. Переносчиками бактерии являются иксодовые клещи: таежный (*I. persulcatus*) и лесной (*I. ricinus*) [1]. *B. burgdorferi является возбудителем б*олезни Лайма (иксодовый клещевой боррелиоз). Это комплексное мультисистемное бактериальное заболевание, при котором поражаются кожа, суставы, сердце и нервная система, часто принимает хроническое течение.

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) – это основной вирусный патоген, передающийся людям от клещей. TBEV содержит РНК-цепь длиной примерно 11 тысяч оснований и кодирующих один полипротеин. Часто инфекция, вызванная TBEV, протекает бессимптомно, но симптоматические случаи имеют такие проявления как менингит, энцефалит и менингоэнцефалит [1]. Клещевой энцефалит (КЭ) - тяжелое заболевание, которое часто приводит к пожизненным неврологическим осложнениям [1] и может привести к смерти.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного определения РНК TBEV (вируса клещевого энцефалита (Tick-borne encephalitis virus)), РНК *Borrelia burgdorferi* s.l. (возбудителя иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ)), РНК *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris* (возбудителей моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ)), ДНК *Anaplasma phagocytophilum* (возбудителя гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ)) в биологическом материале человека (цельная кровь, плазма крови, спинномозговая жидкость (ликвор)) и иксодовых клещах методом ОТ-ПЦР (РНК TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *E. chaffeensis*, *E. muris*) и ПЦР (ДНК *A. phagocytophilum*) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР используют образцы РНК/ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* (выявление РНК TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *E. chaffeensis*, *E. muris,* ДНК *A. phagocytophilum*). Применение набора не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор предназначен для применения в клинической лабораторной диагностике для исследования клещей[1] и биологического материала, полученных от лиц с подозрением на наличие инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования микроорганизмами, выявляемыми с помощью набора, и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациента. Отрицательные результаты исследования должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказания к применению набора отсутствуют.

4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ

При применении набора по назначению, в соответствии с данной инструкцией риски и побочные эффекты отсутствуют.

5 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах[2] (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Описание	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Готовые к применению реакционные ПЦР-смеси в виде геля, раскапанные в 96-луночный планшет	48
2	Готовые к применению реакционные ПЦР-смеси для разнесения по пробиркам	96

[1] Согласно СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (Раздел XX, п. 1647-1648).

[2] Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

6 СОСТАВ

Состав набора указан в таблицах 2, 3, 4.

Таблица 2

Состав формы 1

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет с реагентами TBI (R)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет, заклеенный защитной плёнкой, с реагентами в виде геля на дне пробирок
Плёнки для планшета	–	2 шт.	Клейкие плёнки
ВК (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с НК внутреннего контроля)	0,96	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК Т (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами НК выявляемых микроорганизмов)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде[3] по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение реагентов в планшете

Ряды пробирок	Реагент	Внешний вид
A, C, E, G	Смесь TBI (R)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок
B, D, F, H	Смесь TBI (R)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Смесь TBI (RW)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-фиолетового до фиолетового цвета
Смесь TBI (RW)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой, дНТФ, солями)	0,96	1 пробирка	Прозрачная жидкость от светло-фиолетового до фиолетового цвета
ВК (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с НК внутреннего контроля)	0,96	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость

[3] В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК Т (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами НК выявляемых микроорганизмов)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде[2] по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

7 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом ПЦР (для смесей TBI (R)-1/ TBI (RW)-1) и ОТ-ПЦР (для смесей TBI (R)-2 / TBI (RW)-2) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов амплификации и раздельное выявление мишеней обеспечивается применением в двух реакционных смесях для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 5).

Таблица 5

Каналы детекции мишеней

Канал детекции сигнала от флуорофора	Мишень	Область амплификации
Смесь TBI (R)-1 / Смесь TBI (RW)-1		
FAM	ДНК *A. phagocytophilum*	msp2 gene
R6G[4]	–	–
ROX	–	–
Cy5	ДНК ВК	Искусственно синтезированная последовательность
Смесь TBI (R)-2 / Смесь TBI (RW)-2		
FAM	РНК *E. chaffeensis* / *E. muris*	16S rRNA gene
R6G	РНК *B. burgdorferi* s.l.	23S rRNA gene
ROX	РНК TBEV	polyprotein
Cy5	РНК ВК	Искусственно синтезированная последовательность

7.1 Характеристика положительного контроля ПК Т

Концентрация клонированных фрагментов НК всех выявляемых микроорганизмов в ПК Т составляет 5 lg ± 0,5 lg копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [4, 5].

8 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 6.

[4] Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Таблица 6

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Необходимое оборудование и материалы в случае	
автоматизированной подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР для формы выпуска 1	**ручной подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР для форм выпуска 1 и 2**
• автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» («Амплитек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); • программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСР 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446)); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.	• ПЦР-бокс; • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 5 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСР 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446)); • штатив для ПЦР-планшетов (при использовании формы 1); • штатив для пробирок объёмом 0,2 мл (при использовании формы 2); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • пробирки для ПЦР объёмом 0,2 мл с оптически прозрачной крышкой, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз (при использовании формы 2); • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 20 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

9 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2б.

Вирус клещевого энцефалита (TBEV) отнесён ко II группе патогенности, *A. phagocytophilum, E. chaffeensis*, *E. muris* – к III группе патогенности, *B. burgdorferi* s.l. – к IV группе патогенности.

Согласно СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (Раздел XX, п. 1645) исследования на наличие маркеров TBEV в материале от людей и энтомологическом материале с использованием метода ОТ-ПЦР без выделения возбудителя могут проводиться в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на выполнение работ с использованием ПБА III-IV групп патогенности.

Работа с набором должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы

амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.
- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21 (раздел IV).
- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.
- Утилизировать реагенты и плёнки для планшета (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), внешнюю упаковку набора, эксплуатационную документацию 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» к утилизации медицинских отходов класса Г.
- Не открывать пробирки с продуктами амплификации в процессе их сбора и утилизации.
- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.
- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор по истечении срока годности.
- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром.
- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

10 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
- требованиями, перечисленными в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие цельной крови
Взятие цельной крови провести натощак или через 3 ч после приёма пищи в пробирку с антикоагулянтом (раствором ЭДТА). **ВНИМАНИЕ!** Недопустимо использовать гепарин в качестве антикоагулянта. Тщательно перемешать кровь с антикоагулянтом, несколько раз перевернув пробирку.
Предобработка цельной крови для получения плазмы
Пробирки с цельной кровью центрифугировать 20 мин при 800–1600 x *g* при комнатной температуре. Затем отобрать плазму в количестве не менее 1 мл с использованием отдельного для каждого образца наконечника с фильтром в стерильные одноразовые пробирки.
Взятие и предобработка ликвора
Отобрать спинномозговую жидкость в количестве не менее 1 мл с помощью стерильной одноразовой иглы в стерильную одноразовую пробирку. Предобработка: Пробирки с 1–1,5 мл ликвора центрифугировать 10 мин при 10000 x *g*. Надосадочную жидкость перенести в контейнер с дезраствором, оставив в пробирке осадок клеток и 200 мкл надосадочной жидкости.
Взятие и предобработка клещей
Клеща помещают в пробирку 1,5–2 мл. Предобработка: В пробирку с клещом внести 500 мкл (допускается увеличение объёма до 1,0 мл при исследовании полностью напитавшегося клеща) 0,9 % стерильного изотонического раствора натрия хлорида или фосфатного буферного раствора и гомогенизировать пробу. При ручной гомогенизации клещей с высокой степенью напитанности рекомендуется перед гомогенизацией проколоть его одноразовой иглой для выхода крови и предупреждения разбрызгивания материала при растирании в ступке. Перенести пробу, используя отдельный наконечник с фильтром, в пробирку объёмом 1,5 мл и центрифугировать в течение 2 мин при 2000 x *g* для осветления пробы. Для экстракции РНК/ДНК из клещей использовать 100 мкл надосадочной жидкости. В оставшийся объём суспензии внести глицерол (10 % по объёму оставшейся суспензии), пробу перемешать и заморозить.

Таблица 8

Требования к условиям транспортирования и хранения исследуемого материала

Условия транспортирования и хранения
Цельная кровь
При температуре от 2 °С до 8 °С не более суток. **ВНИМАНИЕ!** Недопустимо замораживание цельной крови.
Плазма крови
• При температуре от 2 °С до 8 °С не более 5 суток; • При температуре минус 20 °С не более года; • Допускается однократное замораживание материала.
Ликвор (до и после предобработки)
• При температуре от 2 °С до 8 °С в течение суток; • При температуре минус 20 °С в течение недели; • Допускается однократное замораживание материала.

Условия транспортирования и хранения
Клещи (до и после предобработки)
• До предобработки при температуре минус 20 °С в течение месяца. • После предобработки при температуре минус 20 °С в течение недели. Допускается однократное замораживание материала.

11 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

11.1 Автоматизированная экстракция НК и подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 и автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

Экстракцию НК из исследуемого материала и контролей, а также внесение образцов экстрагированной НК в пробирки планшета с реакционными Смесями TBI (R)-1, TBI (R)-2 провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции НК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «НК-К (R)» (ООО «Амплитек»).

11.1.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ВК, ОК и ПК Т и осадить капли на вортексе.

11.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «НК-К (R)» и внести в него исследуемые образцы и контроли согласно инструкции по его применению.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК Т не менее чем в одном повторе.

11.1.3 Установить на рабочий стол автоматической станции картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, а также расходные материалы, входящие в состав набора «НК-К (R)», согласно руководству по эксплуатации станции.

11.1.4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок Смесями TBI (R)-1, TBI (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

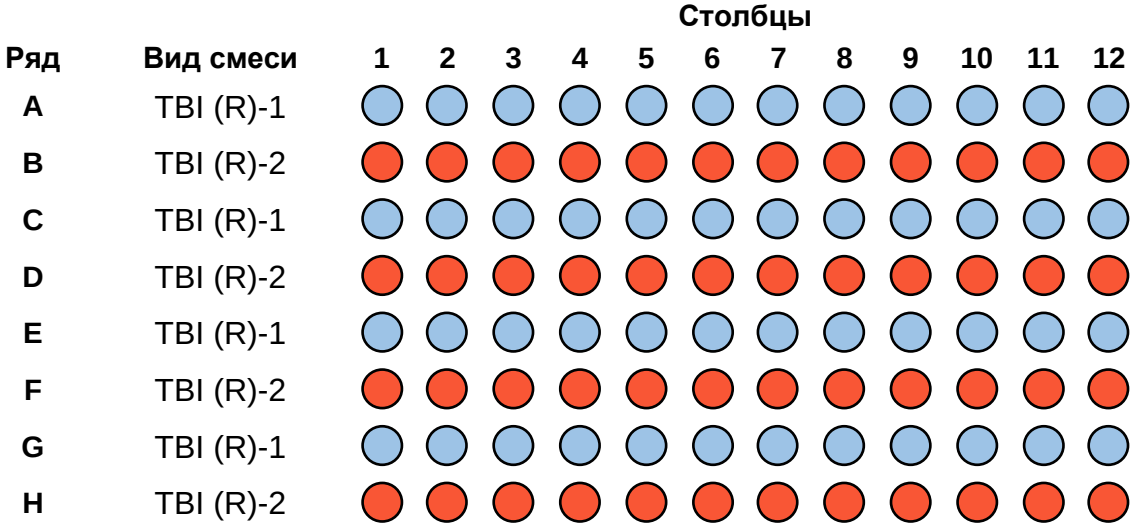

Рисунок 1 – Схема планшета с реагентами

11.1.5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки использовать реагенты в течение 24 ч.

11.1.6 Установить отрезанные пробирки со Смесями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.

ВНИМАНИЕ! Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

11.1.7 Запустить выполнение следующих протоколов согласно руководству по эксплуатации станции «Amplitech E1»:

а) протокола экстракции НК с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «НК-К (R)»;

Примечание – В протоколе указать объём элюции 100 мкл. В случае одновременного запуска протоколов экстракции и подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР объём элюции не требует ручного ввода, так как уже включён в протокол подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР.

б) протокола подготовки к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «Amplitech TBI (R)».

11.1.8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech TBI (R)». Элюат, внесённый в пробирки, содержит полученную в процессе экстракции РНК/ДНК.

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

11.1.9 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 9.

Таблица 9

Программа ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции при подготовке к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1»

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	2 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G[5], ROX, Cy5	

Примечания

1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.

2) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

11.1.10 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

[5] Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

11.2 Экстракция НК и ручная подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР с использованием формы выпуска 1 или 2. Проведение ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции

11.2.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ВК, ОК и ПК Т и осадить капли на вортексе.

11.2.2 Провести экстракцию НК (с применением автоматической или ручной методики) из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «НК-К (R)» (ООО «Амплитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объёме 100 мкл.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК Т не менее чем в одном повторе.

11.2.3 В зависимости от используемой формы выпуска набора «Amplitech TBI (R)» провести подготовку к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР в соответствии с таблицей 10.

Таблица 10

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР в зависимости от формы выпуска набора «Amplitech TBI (R)»

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР при использовании	
формы 1	**формы 2**
• Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями TBI (R)-1, TBI (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1. • Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку. Примечание - После снятия защитной плёнки использовать реагенты в течение 24 ч. • Для удобства внесения образцов НК рекомендуется установить отрезанные пробирки в штатив для ПЦР-планшетов. • Внести в подготовленные пробирки по 20 мкл образцов НК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК Т). **ВНИМАНИЕ!** Каждый образец НК вносится в две пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (TBI (R)-1, TBI (R)-2). **ВНИМАНИЕ!** При внесении НК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь. • Перемешать содержимое пипетирова-	• Перемешать содержимое пробирок со Смесями TBI (RW)-1, TBI (RW)-2 и осадить капли на вортексе. • Выставить в штатив для каждого исследуемого и контрольного образца по две ПЦР-пробирки в два ряда, так как каждый образец НК исследуется в двух пробирках с разными реакционными Смесями (TBI (RW)-1, TBI (RW)-2). Промаркировать пробирки. • Внести в первый ряд подготовленных ПЦР-пробирок по 10 мкл Смеси TBI (RW)-1, во второй ряд по 10 мкл Смеси TBI (RW)-2. • Внести в пробирки с реакционными Смесями по 15 мкл образцов НК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК Т). **ВНИМАНИЕ!** Каждый образец НК вносится в две пробирки с разными реакционными Смесями (TBI (RW)-1, TBI (RW)-2). **ВНИМАНИЕ!** При внесении НК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь. • Перемешать содержимое пипетирова-нием, не допуская пузырьков воздуха. • После внесения образцов НК закрыть пробирки крышкой.

Подготовка к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР при использовании	
формы 1	**формы 2**
нием, не допуская пузырьков воздуха. • После внесения образцов НК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech TBI (R)». **ВНИМАНИЕ!** Пробирки после внесения НК не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.	**ВНИМАНИЕ!** Пробирки после внесения НК не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на крышку.

11.2.4 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 11.

Таблица 11

Программа ОТ-ПЦР/ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ОТ-ПЦР/ПЦР

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G[6], ROX, Cy5	

Примечания

1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.

2) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

11.2.5 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

12 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

12.1 Учёт результатов осуществляется с помощью программного обеспечения используемого амплификатора согласно инструкции по его применению. Рекомендуется выставлять пороговую линию на уровне 10 % от разгорания положительного контроля. Кривые флуоресценции, пересекающие пороговую линию, должны иметь сигмообразную форму.

12.2 Провести интерпретацию результатов для исследуемых образцов согласно таблице 12.

[6] Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Таблица 12

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

	Результат	Интерпретация
	Смесь TBI (R)-1 / Смесь TBI (RW)-1	
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного[7]. По каналу FAM значение Ct отсутствует.	ДНК *A. phagocytophilum* в образце ***не выявлена***.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце ***выявлена*** ДНК *A. phagocytophilum*.
3	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналу FAM значение Ct отсутствует.	Невалидный результат
	Смесь TBI (R)-2 / Смесь TBI (RW)-2	
1	По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного[7]. По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	РНК TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *E. chaffeensis/E. muris* в образце ***не выявлены***.
2	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу FAM определено значение Ct.	В образце ***выявлена*** РНК *E. chaffeensis/E. muris*.
3	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце ***выявлена*** РНК *B. burgdorferi* s.l..
4	По каналу Cy5 значение Ct определено или отсутствует. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце ***выявлена*** РНК TBEV.
5	По двум и более каналам для специфических мишеней (FAM, R6G, ROX) определено значение Ct.	Интерпретация проводится в соответствии с пп. 2–4. Например: В образце ***выявлены*** РНК *B. burgdorferi* s.l., *E. chaffeensis/E. muris*.
6	По каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного. По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей 13.

Таблица 13

Критерии оценки для контролей

Контроль	Норма
Смесь TBI (R)-1 / Смесь TBI (RW)-1	
ОК	По каналу FAM значение Ct отсутствует. По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного[8].
ПК Т	По каналам FAM, Cy5 значение Ct определено не больше граничного.
Смесь TBI (R)-2 / Смесь TBI (RW)-2	
ОК	По каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют. По каналу Cy5 значение Ct определено не больше граничного[8].
ПК Т	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5 значение Ct определено не больше граничного.

13 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых

[7] Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.
[8] Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 14.

Таблица 14

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Для ПК на Смеси TBI (R)-1/ Смеси TBI (RW)-1 значение Ct по каналу FAM и/или Cy5 отсутствует или определено больше граничного[8].	Некорректное проведение экстракции НК и/или ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ПК Смеси TBI (R)-2/ Смеси TBI (RW)-2 значение Ct по каналу FAM и/или R6G и/или ROX и/или Cy5 отсутствует или определено больше граничного.		
Для ОК на любой из Смесей по каналу Cy5 значение Ct отсутствует или определено больше граничного.	Некорректное проведение экстракции НК и/или ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ОК на Смеси TBI (R)-1/ Смеси TBI (RW)-1 по каналу FAM определено значение Ct.	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции НК.
Для ОК на Смеси TBI (R)-2/ Смеси TBI (RW)-2 по каналу FAM и/или R6G и/или ROX определено значение Ct.		
Невалидный результат для исследуемого образца на любой из Смесей (значение Ct по каналу Cy5 отсутствует или определено больше граничного, по каналам FAM, R6G, ROX значения Ct отсутствуют).	Некорректное проведение экстракции НК. Наличие в образце ингибиторов ОТ-ПЦР/ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции НК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.
Для исследуемого образца/контролей определено значение Ct, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъёма (график представляет собой приблизительно прямую линию).	Некорректный выбор уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Некорректное проведение ОТ-ПЦР/ПЦР.	Проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца или, в случае некорректного вида графика для контроля, амплификацию и детекцию для всех исследуемых образцов и контролей.

14 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

14.1 Контроли, используемые в процессе исследования

Результаты исследования контролей должны соответствовать критериям оценки, указанным в разделе 12.

14.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК Т для контроля корректного прохождения исследования.

14.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции НК и оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации используется экзогенный ВК, который добавляется на этапе экстракции НК в каждый исследуемый образец и контроли. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемых микроорганизмов свидетельствует о присутствии ингибиторов ОТ-ПЦР/ПЦР в образце и/или некорректном проведении экстракции НК.

14.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

14.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований

Рекомендуется проводить контроль качества выполнения исследований с использованием панелей контрольных образцов, предназначенных для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению НК выявляемых микроорганизмов, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для качественного определения НК выявляемых микроорганизмов в биологическом материале методом ОТ-ПЦР/ПЦР.

15 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА[9]

15.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 15.

[9] Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартных образцов предприятия, содержащих векторы со специфическими последовательностями РНК/ДНК выявляемых микроорганизмов.

Таблица 15

Предел обнаружения

Мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95 %-ый ДИ, копий/мл
ДНК *A. phagocytophilum*	1000	690 – 1345
РНК *B. burgdorferi* s.l.	1000	620 – 1226
РНК *E. chaffeensis/ E. muris*	1000	619 – 1252
РНК TBEV	1000	658 – 1301

15.2 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 16, геномной ДНК человека, ДНК иксодовых клещей, а также НК выявляемых микроорганизмов. НК микроорганизмов исследовалась в концентрации не менее $1 \cdot 10^6$ копий/мл, ДНК иксодовых клещей и геномная ДНК человека - в концентрации 1 мкг/мл. По итогам тестирования ложноположительных результатов выявлено не было.

Таблица 16

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
Treponema pallidum	EBV	Influenza virus A (A/Anhui/1/2013 (H7N9))
CMV	HHV6	Influenza virus B (B/Москва/46/2019)
Coronavirus 229E	Parainfluenza virus 1 (Сендай)	VZV
Coronavirus NL63	Parainfluenza virus 2	Вирус лихорадки западного Нила
Coronavirus HKU1	Parainfluenza virus 3	–
Coronavirus OC43	Parainfluenza virus 4	–

15.2.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ПЦР/ОТ-ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР/ОТ-ПЦР, перечислены в таблице 17.

Таблица 17

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Цельная кровь	Гепарин	Гепарин	Антикоагулянт	0,15 МЕ/мл	Концентрация в вакуумной пробирке
	ЭДТА-К2	ЭДТА-К2		0,5 мМ/мл	
Плазма крови	Гепарин	Гепарин	Антикоагулянт	0,15 МЕ/мл	
	ЭДТА-К2	ЭДТА-К2		0,5 мМ/мл	
	Цельная кровь	Гемоглобин, холестерин, триглицериды	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объём в образце в условиях «наихудшего случая»
Ликвор	Цельная кровь	Гемоглобин, холестерин, триглицериды	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Глюкоза	Глюкоза	Эндогенная субстанция	10 ммоль/л	
Клещи	Цельная кровь	Гемоглобин, холестерин, триглицериды	Эндогенная субстанция	50 % v/v	
	Растительное масло	Растительное масло	Экзогенная субстанция	20 %	

По результатам оценки было определено вещество (гепарин), ингибирующее ПЦР/ОТ-ПЦР, а также показано, что влияние остальных испытанных веществ в концентрациях согласно таблице 17 на ПЦР/ОТ-ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech TBI (R)», отсутствует.

15.3 Прецизионность измерения

Коэффициент вариации повторяемости $CV_п$ пороговых циклов (Ct), характеризующий внутрисерийную повторяемость измерений с использованием набора, не превышает 5 %.

Коэффициент вариации воспроизводимости $CV_в$ пороговых циклов (Ct), характеризующий межсерийную воспроизводимость измерений с использованием набора, не превышает 10 %.

15.4 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 18.

Таблица 18

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Мишень	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
		положит.	отрицат.		
Цельная кровь	ДНК *A. phagocytophilum*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *B. burgdorferi* s.l.	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *E. chaffeensis/ E. muris*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК TBEV	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
Плазма крови	ДНК *A. phagocytophilum*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *B. burgdorferi* s.l.	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *E. chaffeensis/ E. muris*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК TBEV	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
Ликвор	ДНК *A. phagocytophilum*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *B. burgdorferi* s.l.	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *E. chaffeensis/ E. muris*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК TBEV	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
Клещи	ДНК *A. phagocytophilum*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *B. burgdorferi* s.l.	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК *E. chaffeensis/ E. muris*	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100
	РНК TBEV	88	188	95,9 – 100	98,1 – 100

16 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

16.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты ВК, ПК Т, ОК, Смесь TBI (RW)-1, Смесь TBI (RW)-2 использовать до истечения срока годности набора. После снятия защитной плёнки планшет с реагентами TBI (R) использовать в течение 24 ч.

Не допускается смешивать компоненты наборов разных серий и использовать набор по истечении срока годности.

16.2 Хранение

Набор в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от 2 °С до 8 °С и относительной влажности воздуха от 25 до 75 % в защищённом от солнечного света месте. Планшет с реагентами TBI (R) беречь от влаги.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

Не допускается оставлять планшет с реагентами TBI (R) на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

16.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С не более 10 суток всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах.

16.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Повторное применение использованных для исследования реагентов не допускается.

Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

17 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

Ct – cycle threshold (пороговый цикл)
TBEV – Tick-borne encephalitis virus
в. – версия
ВК – внутренний контроль
ДИ – доверительный интервал
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза – дезоксирибонуклеаза
НК – нуклеиновые кислоты
ОК – отрицательный контроль
ОТ – обратная транскрипция
ПК – положительный контроль
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
РНКаза – рибонуклеаза

18 БИБЛИОГРАФИЯ

1. Валишин Д.А., Мурзабаева Р.Т., Мамон А.П., Мамон М.А., Арсланова Л.В. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами: учебное пособие для ординаторов // Изд-во ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Уфа. – 2015. – С.73.
2. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным болезнью лайма // ФГБУ НИИДИ ФМБА России, общественная организация «Евроазиатское общество по инфекционным болезням», Общественная организация «Ассоциация врачей инфекционистов Санкт-Петербурга и Ленинградской области» (АВИСПО). – 2015.
3. Рудаков Н.В. Анаплазмы и анаплазмозы: руководство для врачей. // Омский научный вестник. – 2017. – №100.
4. Taswell C. Limiting dilution assays for the determination of immunocompetent cell frequencies // J. Immunology. – 1981. – Vol. 126. – P. 1614–1619.
5. Allen G. Rodrigo, Paul C. Goracke, Kiarash Rowhanian, James I. Mullins. Quantitation of target molecules from polymerase chain reaction-based limiting dilution assays // AIDS research and human retroviruses. – 1997. – Vol. 13 (9). – P. 737–742.

19 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

20 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором и не указанных в данной инструкции, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

21 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

22 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Изготовитель		Код серии
	Дата изготовления		Использовать до
	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Не допускать воздействия солнечного света
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Не допускать воздействия влаги
	Номер по каталогу		Диапазон влажности



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru