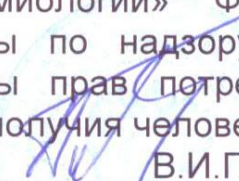


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от 26.02.2013 № 430-Пр/13

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального
бюджетного учреждения науки
«Центральный научно-
исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

В.И.Покровский
«29» октября 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления и количественного определения ДНК
Parvovirus B19 в клиническом материале методом
полимеразной цепной реакции (ПЦР) с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией
«АмплиСенс[®] *Parvovirus B19-FL*»

АмплиСенс[®]



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
Российская Федерация, 111123,
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3а

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	4
ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	8
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	10
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК	11
ФОРМАТ FRT	13
СОСТАВ.....	13
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....	14
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	15
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....	15
А. Подготовка пробирок для амплификации	15
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	17
АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	19
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	23
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Экстракция ДНК с использованием автоматической станции NucliSENS easyMAG	24
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО STI-87	- Внутренний контрольный образец для наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией
В-	- Отрицательный контроль экстракции
К+	- Положительный контроль ПЦР
К-	- Отрицательный контроль ПЦР
ОКО	- Отрицательный контрольный образец
ПКО	- Положительный контрольный образец
ПЦР	- Полимеразная цепная реакция
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
FRT	- Флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиСенс[®] *Parvovirus B19-FL*» предназначен для выявления и количественного определения ДНК *Parvovirus B19* в клиническом материале (периферическая кровь и пуповинная кровь, плазма или сыворотка периферической и пуповинной крови, смывы и мазки из ротоглотки, слюна, спинномозговая жидкость, биоптаты костного мозга, амниотическая жидкость, ворсинки хориона, биоптаты плаценты, транссудаты (асцитическая жидкость) при неимунной водянке плода) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Набор реагентов может быть использован для тестирования образцов донорской крови, а также очищенных продуктов крови.

ВНИМАНИЕ! Набор реагентов «АмплиСенс[®] *Parvovirus B19-FL*» валидирован относительно международного стандарта ВОЗ (2nd WHO International Standard for Parvovirus B19 DNA for Nucleic Acid Amplification (NAT) Assay (версия 1.0, дата 04/02/2009, стандартный образец NIBSC 99/802). Коэффициент пересчета ДНК *Parvovirus B19* копий/мл в МЕ/мл для набора реагентов «АмплиСенс[®] *Parvovirus B19-FL*» равен 0,9.

ВНИМАНИЕ! Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания¹.

¹ В соответствии с Директивой Европейского Союза 98/79/ЕС.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Выявление ДНК *Parvovirus* B19 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией включает в себя два этапа: экстракцию ДНК из образцов клинического материала и амплификацию участка ДНК данного вируса с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, которая проводится непосредственно в ходе ПЦР (формат FRT). Экстракция ДНК из клинического материала проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО STI-87), который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Затем с полученными пробами ДНК проводится реакция амплификации (мультиплекс-ПЦР) участка ДНК структурного гена, кодирующего белок VP1 *Parvovirus* B19 и искусственно сконструированного фрагмента ДНК, клонированного в фаг-λ, используемого в качестве экзогенного внутреннего контроля при помощи специфичных праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала при использовании формата FRT осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Количественное определение ДНК *Parvovirus* B19 методом ПЦР в режиме «реального времени» основывается на существовании линейной зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговый цикл, Cycle threshold, Ct). Для проведения количественного теста амплификацию ДНК из клинических образцов проводят одновременно с ДНК-калибраторами – образцами с известной концентрацией ДНК-мишени. По результатам амплификации ДНК-калибраторов строится

калибровочная линия, по которой происходит определение концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах.

В наборе реагентов применяется «горячий старт», что значительно снижает количество неспецифических реакций. «Горячий старт» обеспечивается использованием химически модифицированной Taq-полимеразы. Химически модифицированная полимеразы (TaqF) активируется при прогреве реакционной смеси при 95 °С в течение 15 мин.

ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в 1 формате.

Формат FRT

Набор реагентов выпускается в 4 формах комплектации:

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

Форма 2 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F.

Форма 3 включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-200 F.

Форма 4 включает наборы реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Форма комплектации 1 предназначена для проведения полного ПЦР-исследования, включающего экстракцию ДНК из клинического материала и амплификацию ДНК *Parvovirus B19* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Формы комплектации 2 и 3 предназначены для проведения амплификации ДНК *Parvovirus B19* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Форма комплектации 4 предназначена для производственных целей для последующей маркировки на языке заказчика и комплектации по наборам.

ВНИМАНИЕ! Форма комплектации 4 используется только в соответствии с регламентом, утвержденным ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность

Вид клинического материала	Комплект для экстракции ДНК	Комплект для амплификации и детекции	Аналитическая чувствительность ² , МЕ ДНК <i>Parvovirus B19</i> /мл	Линейный диапазон измерения, МЕ ДНК <i>Parvovirus B19</i> /мл
Периферическая кровь и пуповинная кровь, плазма или сыворотка периферической и пуповинной крови, смывы и мазки из ротоглотки, слюна, спинномозговая жидкость, биоптаты костного мозга, амниотическая жидкость, ворсинки хориона, биоптаты плаценты, транссудаты (асцитическая жидкость) при неимунной водянке плода	«РИБО-преп»	«ПЦР-комплект» варианты FRT-50 F, FRT-200 F	360	720 – 9 000 000

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает фрагмент ДНК *Parvovirus B19*. Специфическая активность набора реагентов доказана при исследовании клинического материала с последующим подтверждением результата методом секвенирования фрагментов амплификации.

Показано отсутствие активности компонентов набора в отношении ДНК *Cytomegalovirus hominis*; *Escherichia coli*; *Human adenovirus B, C, E*; *Listeria monocitogenes*; *Mycobacterium tuberculosis*; *Proteus vulgaris*; *Rubella virus*; *Salmonella typhimurium*; *Shigella flexneri*; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus agalactiae*; *Streptococcus pyogenes*; *Toxoplasma gondii*; *Varicella-Zoster virus*; вирусы гепатитов А, В, С, D; вирусы герпеса человека 6, 7 типа; вирус иммунодефицита человека, вирусы простого герпеса I, II типа; вирус Эпштейна–Барр; вирус кори; вирус паротита; папилломавирус человека 6, 11, 16, 18, 33, 35 типов и ДНК человека.

² Количество международных единиц (МЕ) ДНК микроорганизма в 1 мл образца исследуемого материала.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

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 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.
- Применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.
- Не использовать набор по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности материалов (MSDS – material safety data sheet) доступны по запросу.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

ЗОНА 1. Экстракция ДНК

1. Ламинарный бокс (например, «БВВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, класс биологической безопасности II тип А).
2. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
3. Отдельный набор автоматических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
4. Одноразовые наконечники с фильтром до 200 мкл и до 1000 мкл в штативах (например, Ахуген, США).
5. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Ахуген, США).

6. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
7. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С для выделенных проб ДНК.
8. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
9. Емкость для сброса наконечников.

При использовании комплекта реагентов «РИБО-преп» (ТУ 9398-071-01897593-2008):

1. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
2. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс об/мин (например, MiniSpin, Eppendorf, Германия).
3. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).

При использовании автоматической станции NucliSENS easyMAG:

1. Автоматическая станция для экстракции РНК/ДНК NucliSENS easyMAG (поставщик «ИнтерЛабСервис», Россия).
2. Набор реактивов и расходных материалов к автоматической станции NucliSENS easyMAG (NucliSens буфер для экстракции 1, NucliSens буфер для экстракции 2, NucliSens буфер для экстракции 3, NucliSens буфер для лизиса, NucliSens магнетизированная силика) (bioMérieux, Франция).

ЗОНА 2. Амплификация и гибридационно-флуоресцентная детекция продуктов амплификации

1. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-«Ламинар.-с», «Ламинарные системы», Россия).
2. Центрифуга/вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
3. Автоматические дозаторы переменного объема (от 5 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл) (например, «Ленпипет», Россия).
4. Одноразовые наконечники с фильтром до 100 и 200 мкл в штативах (например, Axugen, США).
5. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
6. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С для выделенных проб ДНК.
7. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по

МУ 1.3.2569-09.

8. Емкость для сброса наконечников.
9. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия), iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), Mx3000P (Stratagene, США) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов).
10. Одноразовые полипропиленовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл или 0,1 мл:
 - а) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с круглой или плоской оптически прозрачной крышкой – при использовании прибора планшетного типа;
 - б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axygen, США) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene, объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, Corbett Research, Австралия; QIAGEN, Германия) – при использовании прибора роторного типа.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2010 г.

Материалом для исследования служат: периферическая кровь и пуповинная кровь, плазма или сыворотка периферической и пуповинной крови, смывы и мазки из ротоглотки, слюна, спинномозговая жидкость, биоптаты костного мозга, амниотическая жидкость, ворсинки хориона, биоптаты плаценты, транссудаты (асцитическая жидкость) при неимунной водянке плода. Набор реагентов может быть использован для тестирования образцов донорской крови, а также очищенных продуктов крови.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Плазма периферической и пуповинной крови

Взятие периферической крови проводится утром натощак или не ранее, чем через 3 ч после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8-1,1 мм) в пробирку с 6 % раствором ЭДТА. Пуповинную кровь получают во время проведения кордоцентеза на сроках с 20 по 24 нед беременности в пробирку с 6 % раствором ЭДТА согласно стандартной методике. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. В течение 6 ч с момента взятия крови следует отобрать плазму и перенести в новую пробирку. Для этого пробирку с кровью центрифугируют 10 мин при 800-1600 об/мин. Хранить плазму можно не более 5 сут при температуре от 2 до 8 °С, не более 6 мес – при температуре не выше минус 16 °С и длительно – при температуре не выше минус 68 °С. Необходимо помнить, что при каждом размораживании образца происходит частичное разрушение вируса и деградация вирусной ДНК, поэтому для длительного хранения образец рекомендуется делить на небольшие аликвоты по 0,2 – 0,5 мл.

Набор реагентов «АмплиСенс® *Parvovirus B19-FL*» может быть использован как для анализа индивидуальных образцов, так и нескольких образцов плазмы, объединенных в мини-пул. Размер мини-пула не должен превышать 10 индивидуальных образцов крови (по 100 мкл плазмы крови из 10 индивидуальных образцов).

ВНИМАНИЕ! Экстракция ДНК может проводиться из 100 мкл плазмы крови индивидуального образца с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» или с помощью автоматической станции NucliSENS easyMAG (bioMérieux, Франция). Экстракция ДНК из мини-пула может проводиться только с помощью автоматической станции NucliSENS easyMAG.

Амниотическая жидкость

Взятие амниотической жидкости производится во время проведения амниоцентеза методом аспирации на сроках с 16 по 23 нед беременности в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые стерильные герметично закрывающиеся контейнеры согласно стандартной методике.

Для проведения исследования необходимо провести предобработку анализируемого материала. Образец амниотической жидкости тщательно ресуспендировать. Автоматическим дозатором, используя наконечник с фильтром, отобрать 1 мл материала и перенести в новую одноразовую пробирку типа «Эппендорф» для проведения центрифугирования при 8-9 тыс g (12-13 тыс об/мин в центрифуге на 12 мест) в течение 10 мин. Надосадочную жидкость аккуратно отобрать, используя наконечник с фильтром, оставляя над осадком 200 мкл жидкости, затем ресуспендировать материал на вортексе.

Допускается хранение амниотической жидкости и предобработанного материала в течение 1 сут при температуре от 2 до 8 °С, в течение 1 мес – при температуре не выше минус 16 °С, длительное хранение – при температуре не выше минус 68° С. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Слюна

Слюну собирают в стерильную пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл в количестве 0,2-1,0 мл после трехкратного полоскания рта кипяченой водой. Допускается хранение слюны в течение 1 сут при температуре от 2 до 8 °С, в течение 1 мес – при температуре не выше минус 16 °С, длительное хранение – при температуре не выше минус 68 °С.

Смывы и мазки из ротоглотки

Мазки из ротоглотки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки после предварительного полоскания полости рта кипяченой водой.

После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную пробирку типа «Эппендорф» с 500 мкл транспортной среды. Конец зонда отламывают или отрезают, с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают. Допускается хранение мазков в течение 1 сут при температуре от 2 до 8 °С, в течение 1 мес – при температуре не выше минус 16 °С, длительное хранение – при температуре не выше минус 68 °С.

ФОРМАТ FRT**СОСТАВ**

Комплект реагентов «РИБО-преп» вариант 50 – комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Кол-во</i>
Раствор для лизиса	Прозрачная жидкость голубого цвета ³	15	1 флакон
Раствор для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	20	1 флакон
Раствор для отмывки 3	Прозрачная бесцветная жидкость	25	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	10	1 флакон
РНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	4 пробирки

Комплект реагентов рассчитан на выделение РНК/ДНК из 50 проб, включая контроли.

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F – комплект реагентов для амплификации фрагмента ДНК *Parvovirus B19* с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

<i>Реактив</i>	<i>Описание</i>	<i>Объем, мл</i>	<i>Кол-во</i>	
ПЦР-смесь-1-FRT <i>Parvovirus B19</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	1 пробирка	
ПЦР-смесь-2-FRT	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	1 пробирка	
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	1 пробирка	
ДНК калибраторы	KS1 B19	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
	KS2 B19	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка	
ПКО ДНК <i>Parvovirus B19</i> и STI	Прозрачная бесцветная жидкость	0,1	1 пробирка	

Комплект реагентов рассчитан на проведение 60 реакций амплификации, включая контроли.

³ При хранении раствора для лизиса при температуре от 2 до 8 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

ВНИМАНИЕ! Раствор для лизиса из данного набора реагентов имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

ФОРМАТ FRT

К комплекту реагентов прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка
ВКО STI-87	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка

Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-200 F – комплект реагентов для амплификации фрагмента ДНК *Parvovirus B19* с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во	
ПЦР-смесь-1-FRT <i>Parvovirus B19</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки	
ПЦР-смесь-2-FRT	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	4 пробирки	
Полимераза (TaqF)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	2 пробирки	
ДНК калибраторы	KS1 B19	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
	KS2 B19	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	2 пробирки	
ПКО ДНК <i>Parvovirus B19</i> и STI	Прозрачная бесцветная жидкость	0,1	2 пробирки	

Комплект реагентов рассчитан на проведение 200 реакций амплификации, включая контроли.

К комплекту реагентов прилагаются контрольные образцы этапа экстракции:

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	4 пробирки
ВКО STI-87	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	3 пробирки

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- Экстракция ДНК из исследуемых образцов.
- Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».
- Анализ и интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от используемого оборудования изложена в методических рекомендациях по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК *Parvovirus* B19 в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Parvovirus* B19-FL», разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используются:

- комплект реагентов «**РИБО-преп**» (входит в состав формы комплектации 1);
- автоматическая станция **NucliSENS easyMAG** (в соответствии с приложением 1 «Экстракция ДНК с использованием автоматической станции NucliSENS easyMAG»).

Экстракция ДНК из каждого клинического образца проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО STI-87).

ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ 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 пробирок для амплификации

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

1. Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением исследования. Смешивать реагенты из расчета расходования на одну реакцию:

- 10 мкл ПЦР-смеси-1-FRT *Parvovirus* B19;
- 5,0 мкл ПЦР-смеси-2-FRT;
- 0,5 мкл полимеразы (TaqF).

Сделать расчет на необходимое число реакций, включающее

ФОРМАТ FRT

тестирование исследуемых проб и контролей, можно согласно расчетной таблице (см. ниже).

Схема приготовления реакционных смесей

Объем реагентов – 15 мкл				
Объем реагентов на одну реакцию, мкл		10,0	5,0	0,5
Число клинических образцов		ПЦР-смесь-1- FRT <i>Parvovirus</i> B19	ПЦР-смесь-2- FRT	Полимераза (TaqF)
Для количественного определения ⁴	Для качественного определения ⁵			
1	4	70	35	3,5
2	5	80	40	4,0
3	6	90	45	4,5
4	7	100	50	5,0
5	8	110	55	5,5
6	9	120	60	6,0
7	10	130	65	6,5
8	11	140	70	7,0
9	12	150	75	7,5
10	13	160	80	8,0
11	14	170	85	8,5
12	15	180	90	9,0
13	16	190	95	9,5
14	17	200	100	10,0
15	18	210	105	10,5
16	19	220	110	11,0
17	20	230	115	11,5
18	21	240	120	12,0
19	22	250	125	12,5
20	23	260	130	13,0
21	24	270	135	13,5
22	25	280	140	14,0
23	26	290	145	14,5
24	27	300	150	15,0
25	28	310	155	15,5
26	29	320	160	16,0
27	30	330	165	16,5
28	31	340	170	17,0
29	32	350	175	17,5
30	33	360	180	18,0

⁴ Приведены значения с учетом запаса (расчет на одну реакцию больше) и с учетом необходимости постановки пяти контрольных точек (2 ДНК-калибратора – KS1 B19, KS2 B19 (по два повтора) и отрицательный контроль – ДНК-буфер).

⁵ Приведены значения с учетом запаса (расчет на одну реакцию больше) и с учетом необходимости постановки двух контрольных точек (ПКО ДНК *Parvovirus* B19 и STI, ДНК-буфер).

Для качественного определения ДНК *Parvovirus B19* необходимо проводить постановку еще двух точек этапа амплификации: ПКО ДНК *Parvovirus B19* и STI, ДНК-буфер.

Для количественного определения даже одного исследуемого образца ДНК *Parvovirus B19* необходимо проводить постановку еще пяти точек этапа амплификации: 2 ДНК-калибратора – KS1 B19, KS2 B19 (по два повтора) и отрицательный контроль – ДНК-буфер.

2. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
3. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** подготовленной смеси.
4. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
5. Поставить контрольные реакции:

Для количественного определения ДНК *Parvovirus B19*:

- а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**;
- б) **ДНК калибраторы** – внести в две пробирки по **10 мкл ДНК-калибратора KS1 B19**, ещё в две пробирки – по **10 мкл ДНК-калибратора KS2 B19**.

Для качественного определения ДНК *Parvovirus B19*:

- а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**;
- б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК *Parvovirus B19* и STI**.

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

1. Запрограммировать прибор (амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени») для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмлиСенс-1» (см. табл. 1а, 1б).

Таблица 1а

Программа «АмплиСенс-1» для приборов роторного типа⁶

<i>Цикл</i>	<i>Температура, °C</i>	<i>Время</i>	<i>Измерение флуоресценции</i>	<i>Кол-во циклов</i>
1	95	15 мин	–	1
2	95	5 с	–	5
	60	20 с	–	
	72	15 с	–	
3	95	5 с	–	40
	60	20 с	FAM, JOE	
	72	15 с	–	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров FAM⁷ и JOE⁷ (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам).

Таблица 1б

Программа «АмплиСенс-1» для приборов планшетного типа⁸

<i>Цикл</i>	<i>Температура, °C</i>	<i>Время</i>	<i>Измерение флуоресценции</i>	<i>Кол-во циклов</i>
1	95	15 мин	–	1
2	95	5 с	–	5
	60	20 с	–	
	72	15 с	–	
3	95	5 с	–	40
	60	30 с	FAM, JOE	
	72	15 с	–	

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров FAM⁷ и JOE⁷ (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам).

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.
3. Запустить выполнение программы с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу

⁶ Например, Rotor-Gene 3000 и Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов.

⁷ Название каналов детекции для соответствующего прибора см. в методических рекомендациях к набору реагентов.

⁸ Например, iQ iCycler, iQ5 (Bio-Rad, США), Mx3000P (Stratagene, США) и рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в методических рекомендациях по применению данного набора реагентов.

и интерпретации результатов.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам:

- по каналу для флуорофора FAM регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации фрагмента ДНК ВКО (ВКО STI-87).
- по каналу для флуорофора JOE регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации фрагмента ДНК *Parvovirus B19*.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла C_t в соответствующей графе в таблице результатов.

Принцип интерпретации результатов. Качественное определение

- ДНК *Parvovirus B19* **обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE определено значение порогового цикла C_t , не превышающее указанное граничное значение. При этом кривая флуоресценции данной пробы должна пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.
- ДНК *Parvovirus B19* **не обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE не определено (отсутствует) значение порогового цикла C_t (кривая флуоресценции не пересекает пороговую линию), а в таблице результатов по каналу для флуорофора FAM определено значение порогового цикла C_t , не превышающее указанное граничное значение.
- Результат анализа **невалидный**, если для данной пробы не определено (отсутствует) значение порогового цикла C_t по каналу для флуорофора JOE, и по каналу для флуорофора

FAM значение Ct также не определено (отсутствует) или превышает указанное граничное значение. В этом случае требуется повторно провести ПЦР-исследование соответствующего клинического образца.

- Для клинических образцов, у которых значения Ct по каналу JOE превышают указанное граничное значение, результат считается **сомнительным**. Необходимо провести дополнительное исследование данного образца ДНК в двух повторах. В случае получения воспроизводимого положительного значения Ct – результат считать положительным. При получении невоспроизводимых в двух повторах значений – результат считается **сомнительным**.

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

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК, в соответствии с табл. 2.

Таблица 2

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Значение порогового цикла, Ct	
		по каналу для флуорофора FAM	по каналу для флуорофора JOE
В–	Экстракция ДНК	Определено значение меньше граничного	Значение отсутствует
К–	ПЦР	Значение отсутствует	Значение отсутствует
К+	ПЦР	Определено значение Ct меньше граничного	Определено значение Ct меньше граничного

Принцип интерпретации результатов. Количественное определение

На основании значений порогового цикла Ct (пересечение кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией) и, исходя из заданных значений калибраторов KS1 B19 и KS2 B19, указанных во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов, происходит автоматическое построение калибровочной прямой и расчет значений копий

ДНК ПКО (по каналу для флуорофора JOE) и ВКО (по каналу для флуорофора FAM) в пробе ПЦР. Полученные значения используют для **расчета концентрации ДНК *Parvovirus B19*** в исследуемых и контрольных образцах по формуле:

Количество ДНК <i>Parvovirus B19</i> (МЕ/реакция)	_____ x коэффициент А x коэффициент В (копий/мл) = МЕ/мл
Количество ДНК ВКО STI-87 (копий/реакция)	

Коэффициент А = $\frac{100}{\text{объем экстракции, мкл}}$
--

ВНИМАНИЕ! Коэффициент В (число копий ВКО/мл) указывается во вкладыше, прилагаемом к данной серии «ПЦР-комплекта» и не может быть использован для расчета результатов, полученных при анализе с использованием реагентов других серий.

Линейный диапазон измерения набора реагентов 720 – 9 000 000. Если результат больше, чем **9 000 000 МЕ ДНК *Parvovirus B19*/мл**, то он выдается как **результат более 9 000 000 МЕ ДНК *Parvovirus B19*/мл**. Если результат меньше, чем **720 МЕ ДНК *Parvovirus B19*/мл**, то он выдается как **результат менее 720 МЕ ДНК *Parvovirus B19*/мл**.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК, в соответствии с табл. 3.

Таблица 3

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Результаты амплификации	
		по каналу для флуорофора FAM	по каналу для флуорофора JOE
В–	Экстракция ДНК	Определено значение меньше граничного	Значение отсутствует
К–	ПЦР	Значение отсутствует	Значение отсутствует
KS1 B19 KS2 B19	ПЦР	Определено значение <i>Ct</i> и расчетная концентрация	Определено значение <i>Ct</i> и расчетная концентрация

ВНИМАНИЕ! Граничные значения *Ct* и значения концентраций калибраторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

ВНИМАНИЕ!

1. Если для пробы получен **невалидный** результат, требуется повторить ПЦР-исследование соответствующего клинического образца, начиная с этапа экстракции ДНК.
2. Отсутствие положительного сигнала для калибраторов или ПКО ДНК *Parvovirus B19* и STI может свидетельствовать о неправильно выбранной программе амплификации и о других ошибках, допущенных на этапе постановки ПЦР. В таком случае необходимо провести ПЦР еще раз для всех образцов.
3. Если в отрицательном контроле экстракции (В–) по каналу для флуорофора JOE или для отрицательного контроля ПЦР (К–) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE зафиксировано значение порогового цикла *Ct*, значит, произошла контаминация реактивов или проб. В этом случае результаты анализа по всем пробам считаются недействительными. Требуется повторить анализ проб, а также предпринять меры по выявлению источника контаминации.
4. Для исследуемого образца зафиксирован положительный результат, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Это может свидетельствовать о неправильно заданном уровне пороговой линии или параметров расчета базальной линии. Такой результат не должен рассматриваться как положительный. Если он получен при правильном уровне пороговой линии, требуется повторно провести ПЦР для этого образца.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 9 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. При получении разупаковать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение. Комплект реагентов «РИБО-преп», «ПЦР-комплект» хранить при температуре от 2 до 8 °С. ПЦР-смесь-1-FRT *Parvovirus* B19, ПЦР-смесь-2-FRT и полимеразу (TaqF) хранить при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С. ПЦР-смесь-1-FRT *Parvovirus* B19 хранить в защищенном от света месте.

Рекламации на качество набора реагентов «**АмплиСенс®** *Parvovirus* B19-FL» направлять на предприятие-изготовитель ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (111123 г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а) в отдел по работе с рекламациями и организации обучения (тел. (495) 974-96-46, факс (495) 916-18-18, e-mail: products@pcr.ru)⁹.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ



Е.Н. Родионова

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Главный врач ФГБУ «Поликлиника № 1»



Е.Л.Никонов

Управления делами Президента Российской Федерации

⁹ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Экстракция ДНК с использованием автоматической станции NucliSENS easyMAG

При использовании автоматической станции NucliSENS easyMAG совместно с набором реагентов возможно использование протоколов, позволяющих проводить экстракцию ДНК из объемов образцов от 0,1 мл до 1 мл.

Вариант 1. Экстракция ДНК с лизисом образца вне прибора

Данный метод экстракции позволяет снизить расход буфера для лизиса NucliSens и предпочтительнее при работе с образцами клинического материала, содержащего сгустки.

1. Включить прибор NucliSENS easyMAG и подготовить его к экстракции ДНК, следуя инструкции к прибору.
2. В окне для ввода исследуемых образцов ввести для каждого образца следующие параметры: название образца, материал (*Matrix*) для экстракции ДНК – установить *Plasma*, объем образца (*Volume*) – *0,1 ml*, объем элюции (*Eluate*) – *55 mkl*, тип образца (*Type*) – *Lysed*, очередность экстракции ДНК в образцах (*Priority*) – *Normal*.
3. Создать новый протокол экстракции ДНК и сохранить его. В протоколе указать, что лизис и инкубация образцов происходит вне прибора: *On-board Lysis Buffer Dispensing – No, On-board Lysis Incubation – No*.
4. Перенести таблицу образцов в созданный протокол.
5. Отобрать необходимое количество специализированных одноразовых пробирок, предназначенных для экстракции ДНК в приборе NucliSENS easyMAG, (включая отрицательный контроль экстракции). Внести в каждую пробирку на внутренние стенки по **10 мкл ВКО STI-87**. Добавить в пробирки по **550 мкл буфера для лизиса NucliSens**.

ВНИМАНИЕ! При работе с материалом, содержащем сгустки, лизис рекомендуется проводить в пробирках объёмом 1,5 мл. После окончания инкубации (см. п. 8) следует провести центрифугирование пробирок при 10 тыс об/мин в течение 1 мин на микроцентрифуге и перенести надосадочную жидкость в специализированные пробирки, предназначенные для экстракции ДНК в приборе NucliSENS easyMAG.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК

6. В пробирки с **раствором для лизиса** и **ВКО STI-87**, внести по **100 мкл** подготовленных проб, используя наконечники с фильтром и тщательно перемешать пипетированием. Следует избегать попадания в пробирку сгустков слизи и крупных частиц.
7. В пробирку, предназначенную для отрицательного контроля экстракции (**B-**) внести **100 мкл ОКО**.
8. Инкубировать пробирки в течение 10 мин при комнатной температуре.
9. Ресуспендировать пробирку с **магнитной силикой NucliSens**, интенсивно перемешав на вортексе. Внести в каждую пробирку отдельным наконечником с фильтром по **10 мкл магнитной силики** и тщательно перемешать пипетированием. Магнитная силика должна быть равномерно распределена по всему объему пробирки.
10. Загрузить пробирки с образцами в прибор, установить наконечники, запустить программу экстракции ДНК с лизисом образцов вне прибора (**Off board**).
11. После окончания экстракции ДНК извлечь пробирки из прибора.

Пробирки с пробами ДНК перенести в зону амплификации.

Вариант 2. Экстракция ДНК с лизисом образца в приборе

1. Включить прибор NucliSENS easyMAG и подготовить его к экстракции ДНК, следуя инструкции к прибору.
2. В окне для ввода исследуемых образцов ввести для каждого образца следующие параметры: название образца, материал (**Matrix**) для экстракции ДНК- плазма (**Plasma**), объем образца (**Volume**) – **0,1-1 ml**, объем элюции (**Eluate**) – **55 mkl**, тип образца (**Type**) – **Primary**, очередность экстракции ДНК в образцах (**Priority**) – **Normal**.
3. Создать новый протокол экстракции ДНК и сохранить его. В протоколе указать, что лизис и инкубация образцов происходит автоматически в приборе: **On-board Lysis Buffer Dispensing – Yes, On-board Lysis Incubation – Yes**.
4. Перенести таблицу образцов в созданный протокол.
5. В каждую пробирку, предназначенную для экстракции ДНК в приборе NucliSENS easyMAG, необходимо добавить **100 мкл** подготовленных проб отдельным наконечником с

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК

фильтром.

6. В пробирку, предназначенную для отрицательного контроля экстракции (В–) внести **100 мкл ОКО**.
7. В отдельной стерильной пробирке объемом 2 мл смешать **магнитную силику NucliSens, ВКО STI-87** стерильными наконечниками с фильтром в следующем соотношении:

Количество образцов для экстракции ДНК	Количество магнитной силики NucliSens, мкл	Количество ВКО STI-87, мкл
1	10	10
24 (полная загрузка прибора)	250 (с запасом на 25 проб)	250 (из двух пробирок)

8. Содержимое пробирки тщательно перемешать. Смесь магнитной силики NucliSens с ВКО STI-87 может храниться не более 30 мин.
9. Загрузить пробирки с образцами в прибор, установить наконечники, запустить программу экстракции ДНК с лизисом образцов в приборе (**On board**).
10. Дождаться, пока прибор NucliSENS easyMAG не остановит работу в положении **Instrument State-Idle** (примерно 15 мин).
11. Тщательно перемешать пробирку с приготовленной смесью магнитной силики NucliSens, ВКО STI-87 на вортексе до однородного состояния. Открыть крышку прибора и добавить в каждую пробирку отдельным наконечником по **20 мкл смеси**. Каждую пробирку тщательно перемешать пипетированием с помощью многоканального дозатора с отдельными наконечниками с фильтром на 200 мкл.
12. Запустить на приборе программу продолжения экстракции ДНК.
13. После окончания экстракции ДНК извлечь пробирки из прибора.
14. Пробирки с пробами ДНК перенести в зону амплификации.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

	Номер в каталоге		Максимальное число тестов
	Код партии		Использовать до
	Изделие для <i>in vitro</i> диагностики		Обратитесь к руководству по эксплуатации
	Дата изменения		Не допускать попадания солнечного света
	Ограничение температуры		Дата изготовления
	Производитель		