Как выявить и предотвратить недостоверные результаты ПЦР-исследования на примере детекции SARS-CoV-2

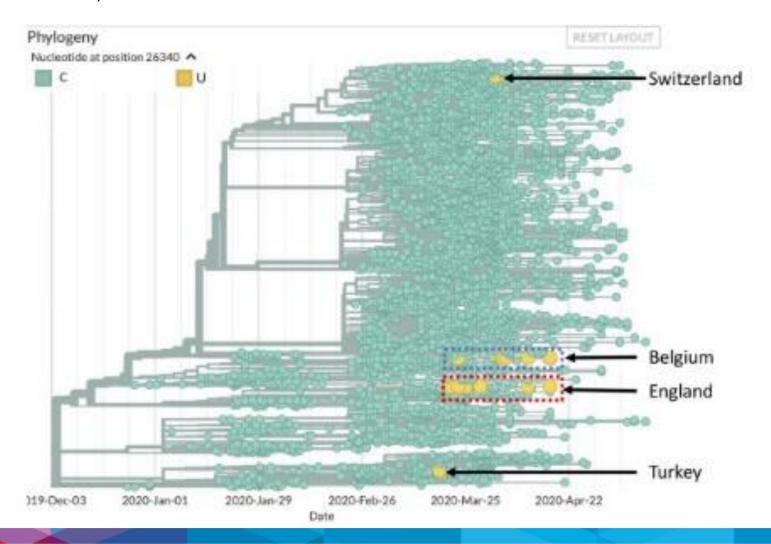
Руцкий Юрий Николаевич, Менеджер по маркетингу



Причины ложно (+)	Причины ложно (-)
Контаминация проб	Недостаточное количество материала для анализа
	Деградация НК при нарушении режима и сроков транспортировки
	Мутирование вируса

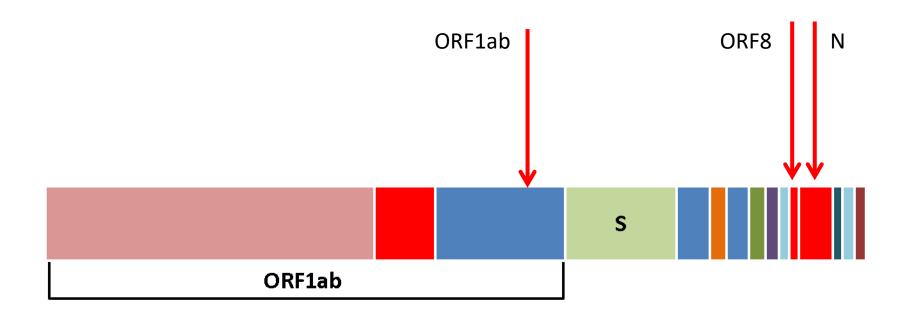


A recurrent mutation at position 26,340 of SARS-CoV-2 is associated with failure of the E-gene qRT-PCR utilized in a commercial dual-target diagnostic assay Maria Artesi, et al.





Мы предлагаем тест-систему для детекции 3 мишеней:



Все мишени специфичны для SARS-CoV-2



Бессимптомное течение КОВИД-19 и предсимптомная стадия

ВАЖНО не пропустить SARS-CoV-2,

чтобы остановить распространение инфекции



Включение «человеческой мишени» в тест-систему рекомендовано ВОЗ

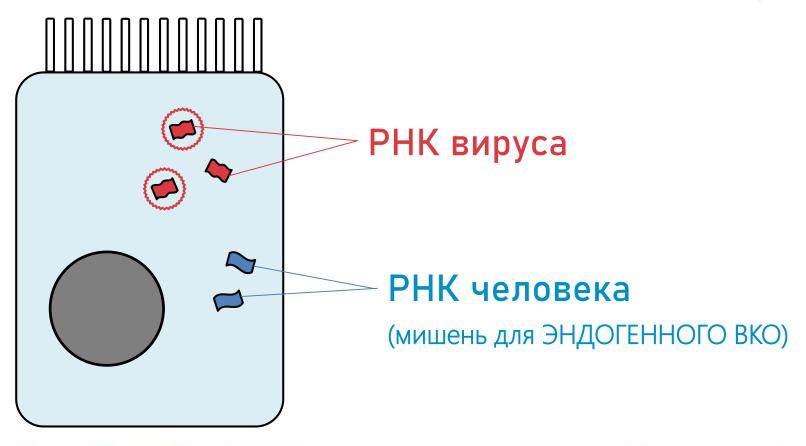
Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases

Interim guidance 19 March 2020





Эндогенный Внутренний контроль проходит тот же путь до ПЦР-пробирки, что и РНК вируса





Эндогенный Внутренний Контроль

показывает

Правильность сбора мазка и его транспортировки



Путь образца до ПЦР-пробирки...

Сбор мазка

Транспортировка

Выделение РНК







На каждом этапе могут произойти ошибки, приводящие к ложно-отрицательным результатам



Причины ошибок:



Собранно недостаточное количество клеток



Нарушен температурный режим

Превышен срок хранения образца



Потерян осадок НК

Остались ингибиторы ПЦР



Обычный ВКО позволяет контролировать только этап Выделения НК:















Эндогенный ВКО показывает, что все этапы прошли правильно:















Контаминация!

- Раздельный анализ материала из групп с высокой и низкой распространенностью инфекции
- Строгое соблюдение поточности образцов и реагентов
- Строго соблюдение зональности (желательно с контролем разницы давления не менее 10 паскаль)
- Плотно закрывать крышки пробирок (+качество пробирок!)
- Наконечники с фильтром для всех манипуляций после внесения образца
- ОКО ставится последним (и в каждой группе образцов)
- Регулярная деконтаминация поверхностей (в т.ч. во время работы)



Оба набора Интифика

Имеют форму комплектации с набором реагентов для выделения РНК

470-02 Интифика SARS-CoV-2

467-02 Интифика SARS-CoV-2-mono







Не допускайте

СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ НК МЕТОДОМ СПИРТОВОЙ ПРЕЦИПИТАЦИИ

1 ПОДГОТОВКА РАБОЧЕГО МЕСТА

- Установить термостат на 65°C
- Прогреть Лизирующий буфер на термостате (если есть осадок)
- Подготовить 1, 5 мл пробирки (по числу образцов +1 для ОКО)

2 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ В ТС

• Проверить герметичность транспортной среды



Образцы вносить

наконечником

с аэрозольным

Далее вносить

реагенты только

наконечниками

с аэрозольным

фильтром

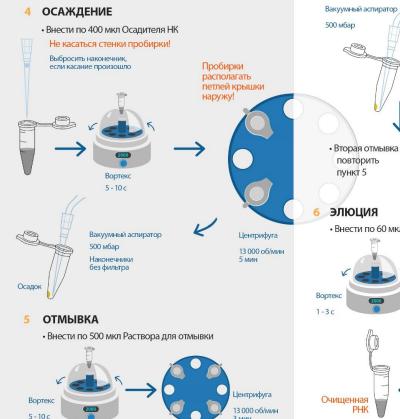
фильтром

3 ЛИЗИС

- Внести в пробирки:
- по 300 мкл Лизирующего буфера техникой обратного дозирования с мертвым объемом
- 100 мкл образца
- 100 мкл ОКО в пробирку для ОКО

Всегда ПЛОТНО закрывайте пробирки!











mailMRK@alkorbio.ru



