

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «БиоЛайн»

Семенов А.В.
«17» декабря 2012 г.

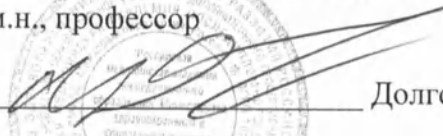


РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ
изделия медицинского назначения

Набор реагентов для идентификации возбудителей пневмонии и их генетической устойчивости к антибиотикам в картридже и пробирках с крышками и наконечником (The Unyvero P50 Pneumonia Cartridge Set), производства Куретис АГ, Германия, Curetis AG

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России,
д.м.н., профессор


Долгов В.В.



2012



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ
ИДЕНТИФИКАЦИИ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПНЕВМОНИИ И
ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
УСТОЙЧИВОСТИ К
АНТИБИОТИКАМ В КАРТРИДЖЕ
И ПРОБИРКАХ С КРЫШКАМИ И
НАКОНЕЧНИКОМ (THE UNYVERO
P50 PNEUMONIA CARTRIDGE
SET)
UNYVERO™ РУКОВОДСТВО
ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Art. No. 00118 V2.0

Содержимое данного руководства или его части не могут быть скопированы, воспроизведены или использованы в каком-либо виде и какими-либо способами, включая перевод на иностранный язык, без предварительного согласования и письменного разрешения компании Curetis AG.

Curetis AG

Макс-Эйт-Штрассе , 42

71088 Хольцгерлинген

Германия

Тел. +49 7031 4919 510

Факс +49 7031 4919 519

Печать новых изданий руководства пользователя

Новые издания данного руководства являются полностью пересмотренными и исправленными редакциями, отражающими изменения функциональных возможностей оборудования. В период между выпусками новых изданий могут быть произведены корректировки и обновления текущего издания. Номер версии издания отображен на титульном листе и в нижних колонтитулах, изменяясь при обновлении и издании новой версии руководства. Для получения информации о текущей версии или покупки новой версии руководства обращайтесь к дистрибьютору Curetis AG в вашем регионе или обратитесь в раздел загрузок на официальном сайте Curetis.

Unyvero™ является торговой маркой компании Curetis AG.

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ

- 1.1 *Использованные символы и обозначения* 5
- 1.2 *Условные обозначения* 6
- 1.3 *Ограничения ответственности* 7
- 1.4 *Обслуживание и техническая поддержка* 8

БЕЗОПАСНОСТЬ

- 2.1 *Использование по назначению* 10
- 2.2 *Ответственность пользователя* 11
- 2.3 *Хранение и использование* 12
- 2.4 *Риск биологической опасности* 12
- 2.5 *Риск химической опасности* 13

ОСНОВНОЙ ПРИНЦИП МЕТОДА

- 3.1 *Компоненты Unyvero™* 16
- 3.2 *Картридж для диагностики пневмонии* 18
- 3.3 *Порядок работы* 19
- 3.4 *Операционная система Unyvero™* 20
- 3.5 *Факты о пневмонии* 23
- 3.6 *Панель Unyvero™ Pneumonia Panel* 23
- 3.7 *Принцип исследования* 28

ВЫПОЛНЕНИЕ АНАЛИЗА

- 4.1 *Подготовка* 30
- 4.2 *Хранение образцов* 33

- 4.3 *Транспортировка образцов* 33
- 4.4 *Начало теста* 37
- 4.5 *Размораживание Пробирки Мастер Микс* 38
- 4.6 *Лизирование* 38
- 4.7 *Ход лизирования* 40
- 4.8 *Извлечение образцов* 41
- 4.9 *Сборка картриджа* 42
- 4.10 *Измерение* 45
- 4.11 *Ход анализа* 46
- 4.12 *Извлечение картриджа* 47

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА

- 5.1 *Доступ к результатам* 49
- 5.2 *Считывание результатов* 50
- 5.3 *Неверные измерения* 55

СООТВЕТСТВИЕ ЕВРОПЕЙСКИМ СТАНДАРТАМ

- 6.1 *Пределы обнаружения* **Ошибка! Закладка не определена.**
- 6.2 *Перекрестная реактивность* 57
- 6.3 *Интерферирующие вещества* 57
- 6.4 *Воспроизводимость* 58
- 6.5 *Чувствительность и Специфичность* 59

ПРЕДИСЛОВИЕ

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство по применению

00118 V2.0

Данное руководство предназначено для работников сферы здравоохранения, работающих с **Набор реагентов для идентификации возбудителей пневмонии и их генетической устойчивости к антибиотикам в картридже и пробирках с крышками и наконечником (The Unyvero P50 Pneumonia Cartridge Set)**, производства Curetis AG, и работников, осуществляющих сервис Системы Unyvero™.

1.1 Используемые символы и обозначения

Безопасность

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Символ Предупреждение отмечает информацию о действиях или процессах, которые могут повлечь за собой травму или потерю жизни в случае неправильного использования. Не переходите к следующему этапу действий до тех пор, пока не удостоверились в оценке рисков и возможности безопасно действовать далее.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТЬ Символ Предосторожность отмечает информацию о действиях или процессах, которые могут повлечь за собой порчу оборудования или расходных материалов или привести к получению недостоверных результатов анализа в случае неправильного использования. Не переходите к следующему этапу действий, пока не удостоверились в оценке рисков и возможности действовать далее без нанесения ущерба.

ПРИМЕЧАНИЕ Символ Примечание отмечает информацию о действиях или процессах, которые могут помочь повысить эффективность и результативность ваших действий при работе с данной продукцией.

1.2 Условные обозначения

Зарегистрированные и сокращенные названия

Таблица 1 Компоненты системы Unyvero™

Proprietary names	Common names
Анализатор A50 Unyvero™	Анализатор Unyvero™
Модуль для лизирования образца L4 Unyvero™	Модуль для лизирования образца Unyvero™
Управляющая рабочая станция C8 Unyvero™	Управляющая рабочая станция Unyvero™
Пробирка Мастер Микс M1 Unyvero™	Мастер Микс Unyvero™
Операционная система Unyvero™	ОС Unyvero™
Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™	Картридж для диагностики пневмонии Unyvero™
Программный модуль P50 для диагностики пневмонии Unyvero™	Программный модуль для диагностики пневмонии Unyvero™
Штатив-держатель пробирок для образца Unyvero™	Штатив-держатель пробирок для образца Unyvero™
Наконечник для переноса образца T1 Unyvero™	Наконечник для переноса образца Unyvero™
Пробирка для образца T1 Unyvero™	Пробирка для образца Unyvero™
Крышка к пробирке для образца T1 Unyvero™	Крышка к пробирке для образца Unyvero™
Транспортная крышка T1 Unyvero™	Транспортная крышка Unyvero™

Система Unyvero™ состоит из Анализатора Unyvero™ (№ по каталогу 1629785), Модуля для лизирования образца Unyvero™ (№ по каталогу 1600142), Управляющей рабочей станции Unyvero™ (№ по каталогу 1668968), оснащенной Операционной системой Unyvero™, и Штатива-держателя пробирок для образца Unyvero™ (№ по каталогу 60010).

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application включает в себя следующие компоненты: Набор реагентов для диагностики пневмонии Unyvero™ P50 (№ по каталогу 10010) (включает Картридж для диагностики пневмонии Unyvero™ (№ по каталогу 10001), Пробирку для образца Unyvero™ (№ по каталогу 10012), Крышку к пробирке для образца Unyvero™ (№ по каталогу 10013), Наконечник для переноса образца Unyvero™ (№ по каталогу 10014)), Пробирку Мастер Микс Unyvero™ (№ по каталогу 10011) и Программный модуль для диагностики пневмонии Unyvero™. Кроме того, Наконечник для переноса образца Unyvero™ также может использоваться для переноса вязких образцов при работе с другими Приложениями Unyvero™ Application.

Экранные клавиши управления выделены жирным курсивом.

1.3 Ограничения ответственности

Вся информация и данные, отображенные в данном руководстве, представлены в соответствии с действующими Европейскими стандартами и нормами.

Производитель не несет ответственности за ущерб в результате:

- » Невыполнения инструкций, предоставляемых вместе с оборудованием и расходными материалами
- » Использования оборудования и расходных материалов в целях, отличных от предназначения и целей, заявленных в данном руководстве
- » Использования оборудования и расходных материалов персоналом без предварительной подготовки
- » Неавторизованного внесения изменений в изделия.

Информация в данном руководстве может быть изменена без предварительного уведомления.

Компания Curetis AG не несет ответственности ни за какие формы презентации и распространения данного материала, включая, но не ограничиваясь косвенной гарантией товарного качества и соответствия товара конкретному намерению покупки или использования.

Компания Curetis AG не несет ответственности за ошибки, содержащиеся в данном документе, за случайный ущерб или ущерб, являющийся следствием предоставления, презентации или использования данного материала.

1.4 Обслуживание и техническая поддержка

Заявки по осуществлению технической поддержки принимает компания Curetis AG по телефону или электронной почте. Перед обращением, пожалуйста, удостоверьтесь, что вы имеете информацию о серийном номере оборудования и номере лота расходных материалов.

Телефон: +49 7031 49195 55 или e-mail: support@curetis.com

Официальный эксклюзивный дистрибьютор продукции Curetis AG на территории России – ООО «БиоЛайн»

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, Петроградская набережная, д. 36, лит. А.

Телефон (812) 320-49-49, факс (812) 320-49-40.

e-mail: main@bioline.ru

БЕЗОПАСНОСТЬ

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

В данной главе описаны меры предосторожности, которые следует соблюдать, и условия, о которых нужно помнить для безопасного использования Картриджа для диагностики пневмонии Unyvero™.

2.1 Использование по назначению

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application для диагностики пневмонии предназначено для определения патогенов, вызывающих пневмонию, и генов их устойчивости к антибиотикам, с использованием Системы Unyvero™.

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application для диагностики пневмонии является полуколичественным тестом на присутствие нуклеиновых кислот, основанного на восьми параллельно поставленных мультиплексных ПЦР-реакциях. Приложение протестировано в отношении одновременного обнаружения и распознавания ряда последовательностей нуклеиновых кислот, выделенных из патогенных микроорганизмов, в мокроте, аспирационном материале из дыхательных путей и бронхоальвеолярном лаваже пациентов, с подозрением на пневмонию, для получения информации о том, какие виды патогенов присутствуют в клиническом образце, а также о генах их устойчивости к антибиотикам. Выявление и идентификация специфичных последовательностей ДНК невирусного происхождения, выделенных из клинических образцов, полученных от пациентов с признаками и симптомами пневмонии, помогает в диагностике респираторной бактериальной или грибковой инфекции, если используется в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными. Сопутствующее культивирование необходимо для получения культуры искомых организмов для дальнейшего тестирования чувствительности к антибиотикам.

Рекомендуется проверять микробиологическим культивированием образцы, дающие при исследовании с помощью Приложения Unyvero™ Pneumonia Application отрицательный результат на наличие патогенных микроорганизмов и генов их устойчивости к антибиотикам. В частности, отрицательный ответ, касающийся устойчивости, не исключает отсутствия этой устойчивости, в связи с тем, что устойчивый фенотип может быть обусловлен другими молекулярными механизмами, не тестируемыми Приложением Unyvero™ Pneumonia Application. Положительные результаты не исключают грибковые или вирусные ко-инфекции, или ко-инфекции с другими бактериями, не представленными в рамках Панели Unyvero™ Pneumonia. Поэтому,

обнаруженный микроорганизм может и не являться определяющим возбудителем заболевания.

Результаты, полученные с помощью Системы Unyvero™, не следует использовать как единственный способ диагностики при принятии решений по лечению или другим вопросам.

2.2 Ответственность пользователя

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Приложение Unyvero™ Pneumonia Application должно быть использовано только в соответствии с его предназначением. Любые претензии, связанные с использованием Приложения Unyvero™ Pneumonia Application не по назначению, не будут рассматриваться компанией Curetis AG.

Не используйте составляющие набора после истечения срока годности. Не используйте расходные материалы, если они покажутся вам влажными, или, если заметите какие-либо повреждения упаковки. Вскрывайте герметичную упаковку только непосредственно перед использованием.

Картридж для диагностики пневмонии Unyvero™, Пробирка для образца Unyvero™, Крышка к пробирке для образца Unyvero™, Наконечник для переноса образца Unyvero™ и Пробирка Мастер Микс Unyvero™ предназначены для исследования образца только одного пациента. После применения компоненты подлежат утилизации. Повторное использование запрещено.

Перед началом работы с Приложением Unyvero™ Pneumonia Application, пользователь должен быть проинструктирован о правилах эксплуатации данного оборудования. Такой инструктаж может быть проведен представителями компании Curetis AG, либо представителями, авторизованными компанией Curetis AG.

Вместе с тем, пользователю следует ознакомиться с соответствующим приложению руководством и паспортами безопасности (MSDS) (для следующих расходных материалов: Картриджа Unyvero™, Пробирке для образца Unyvero™, Крышке к пробирке для образца Unyvero™, Пробирке Мастер Микс Unyvero™).

2.3 Хранение и использование

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Картридж Unyvero™, Пробирку для образца Unyvero™ и Крышку к пробирке для образца Unyvero™ следует хранить при температуре от 15°C до 25°C. Не подвергайте расходные материалы Unyvero™ воздействию прямого солнечного света.

В течение длительного срока (более 7 дней) Пробирку Мастер Микс Unyvero™ следует хранить при температуре -20°C, кратковременное хранение (менее 7 дней) осуществляется при +4°C. Размораживайте Пробирку Мастер Микс Unyvero™ на протяжении 30 минут перед использованием при комнатной температуре.

Вскройте упаковку картриджа не ранее, чем за 30 минут до начала использования.

2.4 Риск биологической опасности

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ При работе с образцами биологического происхождения вы подвергаетесь риску заражения. Обращайтесь с образцами биологического происхождения, в том числе с пробирками, содержащими такие образцы, как с потенциально инфекционным материалом. Следуйте рекомендациям по обращению с биологическим материалом, установленным вашим учреждением. Утилизируйте одноразовые расходные материалы в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Удалять неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790–10.- Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами.

Настоятельно рекомендуется надевать одноразовые перчатки, защитные очки и халаты при работе с клиническими образцами и расходными материалами Приложения Unyvero™ Pneumonia Application. Настоятельно рекомендуется тщательно мыть руки после работы с клиническими образцами и расходными материалами. Утилизируйте одноразовые рас-

ходные материалы в соответствии с рекомендациями, установленными вашим учреждением или местными властями.

2.5 Риск химической опасности

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Для сведения к минимуму рисков при работе с опасными химическими веществами:

- » Избегайте прямого контакта с химическими веществами;
- » Используйте средства индивидуальной защиты (очки, перчатки и одежду) в течение всей работы с химическими веществами.
- » Регулярно проверяйте утечки и разливы химических веществ.

В случае если произошла утечка, следуйте рекомендациям по процедуре очистки, отображенным в паспортах безопасности (MSDS).

Следуйте государственным/местным или федеральным законам и рекомендациям по хранению, утилизации и обращению с химическими реагентами. Утилизируйте использованные расходные материалы в соответствии с федеральными или ведомственными рекомендациями.

ПРИМЕЧАНИЕ Паспорта безопасности (MSDS) к Картриджу Unyvero™, Пробирке для образца Unyvero™, Пробирке Мастер Микс Unyvero™ и Крышке к пробирке для образца Unyvero™, предоставляются по запросу компанией Curetis AG.

Использованные обозначения



Внимание, обратитесь к
сопроводительной доку-
ментации



Не подвергайте воздействию пря-
мого солнечного света



Медицинское устройство
для лабораторной диаг-
ностики



Не используйте, если упаковка по-
вреждена



Европейский стандарт



Обратитесь к инструкции перед
использованием



Однократное использо-
вание



Ограничения по температуре



Использовать до указан-
ной даты (Срок годности)



Содержимого достаточно для про-
ведения <n> исследований



Номер лота (партии)



Производитель



Номер по каталогу

ОСНОВНОЙ ПРИНЦИП МЕТОДА

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

3.1 Компоненты Unyvero™

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application состоит из следующих частей:

- » Модуль для лизирования образца Unyvero™
- » Управляющая рабочая станция Unyvero™
- » Анализатор Unyvero™
- » Операционная система Unyvero™ и Unyvero™ P50 Программный модуль
- » Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
- » Пробирка для образца Unyvero™
- » Крышка к пробирке для образца Unyvero™
- » Пробирка Мастер Микс Unyvero™
- » Наконечник для переноса образца Unyvero™
- » Штатив-держатель пробирок для образца Unyvero™

Оборудование и программное обеспечение

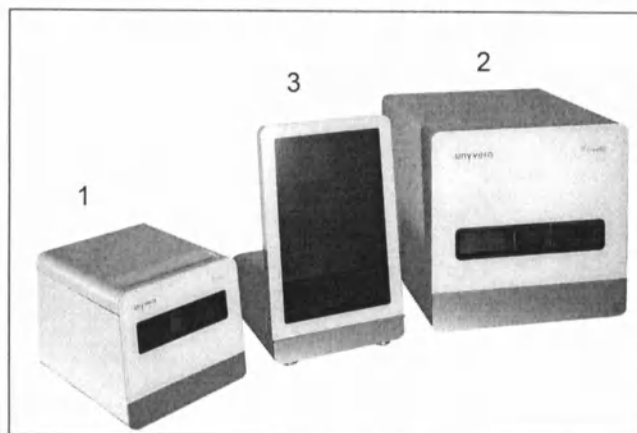


Рисунок 1. Система Unyvero™

Модуль для лизирования образца Unyvero™ (1) выполняет разрушение (лизирование) клинического материала, полученного от пациента. Благодаря последним технологическим достижениям, Модуль для лизирования образца способен обрабатывать нативные клинические образцы различного происхождения, используя один и тот же протокол работы.

Анализатор A50 Unyvero™ (2) способен одновременно обрабатывать до 2х картриджей с возможностью произвольной загрузки, полностью автоматически выполняя процедуры выделения ДНК, спе-

цифичную амплификацию и детекцию.

Управляющая рабочая станция Unyvero™ (3) с сенсорным терминалом и встроенным сканером для считывания штрих кодов соединяется с Анализатором Unyvero™ и Модулем для лизирования образца Unyvero™ в единую систему. Операционная система Unyvero™ с программным обеспечением и Программный модуль Unyvero™, соответствующий типу картриджа, предоставляют пользовательский интерфейс, направляющий пользователя шаг за шагом через всю процедуру анализа, и автоматически отображающий результаты анализа.

Расходные материалы и принадлежности



Картридж Unyvero™ содержит реагенты выделения и очистки ДНК, праймеры, гибридизационные буферы, отмывающие буферы и зонды для детекции.



Пробирка для образца T1 Unyvero™ используется для пробоподготовки образца, полученного от пациента. Содержит стеклянные гранулы и буферы для лизирования бактерий и разжижения образца.



Крышка к пробирке для образца T1 Unyvero™ плотно закрывает Пробирку для образца Unyvero™ и содержит протеиназу К и синтетическую последовательность ДНК для контролирования процессов.



Наконечник для переноса образца T1 Unyvero™ является вспомогательным устройством для использования со шприцом на 1 мл с разъемом Лuer-Лок (шприц не входит в комплект поставки). Наконечник помогает перенести образец из емкости с клиническим материалом в Пробирку для образца Unyvero™.



Пробирка Мастер Микс T1 Unyvero™ содержит реагенты для амплификации ДНК, такие как термостабильная ДНК-полимераза, буфер для ПЦР и дезоксирибонуклеотиды.



Штатив-держатель пробирок для образца Unyvero™ предназначен для закрепления Пробирок для образца Unyvero™ в процессе переноса образца, полученного от пациента, в обозначенную пробирку (штатив-держатель

является принадлежностью, поставляемой совместно с Системой Unyvero™.

ПРИМЕЧАНИЕ Приборы описаны более подробно в руководстве к Системе Unyvero™.

3.2 Картридж для диагностики пневмонии

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™ (Рисунок 2) осуществляет все этапы исследования проб для выполнения полного анализа диагностики пневмонии:



выделение ДНК,



мультиплексная ПЦР с детекцией по «конечной точке», и



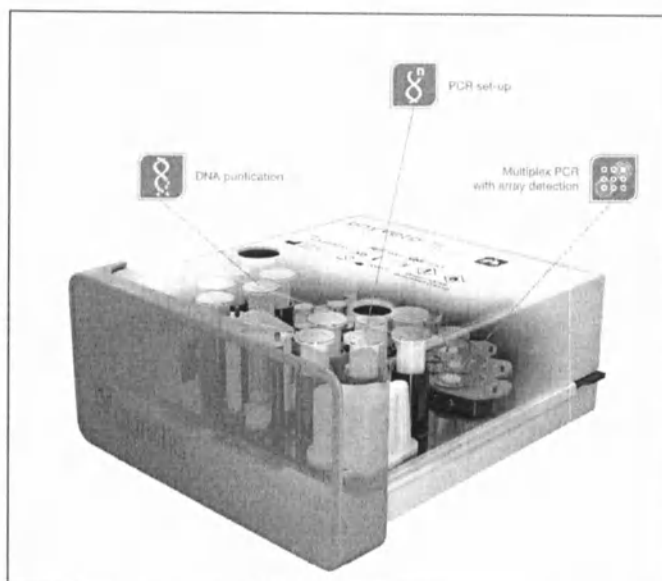
детекция ампликонов (продуктов ПЦР) с помощью гибридизации на мембране методом ДНК-микрочип

Картридж Unyvero™ содержит встроенные емкости для реагентов, колонку для очистки ДНК, восемь независимых камер для ПЦР и соответствующее количество мембран с чипами (зондами). В Картридже уже содержатся буферы для выделения ДНК, реагенты и флюоресцентно-меченные праймеры для амплификации методом ПЦР, а также зонды для гибридизации методом ДНК-микрочип.

После лизирования образца, пользователь собирает Картридж, вставляя в Картридж Пробирку для образца Unyvero™ с лизированным образцом и размороженную Пробирку Мастер Микс Unyvero™. После сборки Картридж представляет собой физически закрытую систему, что сводит к минимуму риски контаминации.

Внутренний контроль (синтетический ген, не имеющий значимой гомологии с известными последовательностями, встречающимися в природе) претерпевает все процессы, происходящие в Картридже, для проверки корректного прохождения этапов выделения ДНК, ПЦР и гибри-

зации. Данный ген амплифицируется в каждой из 8 камер ПЦР и гибридизуется на каждой из 8 мембран.



3.3 Порядок работы

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application легко в использовании, и работа с ним займет только 5 минут. На первом этапе образец разрушают (лизируют) при помощи Модуля для лизирования образца (Рисунок 3). Затем, в Картридж вставляют Пробирку с образцом и Пробирку Мастер Микс для последующего анализа при помощи Анализатора Unyvero™.

Рисунок 2. Картридж для диагностики пневмонии Unyvero™

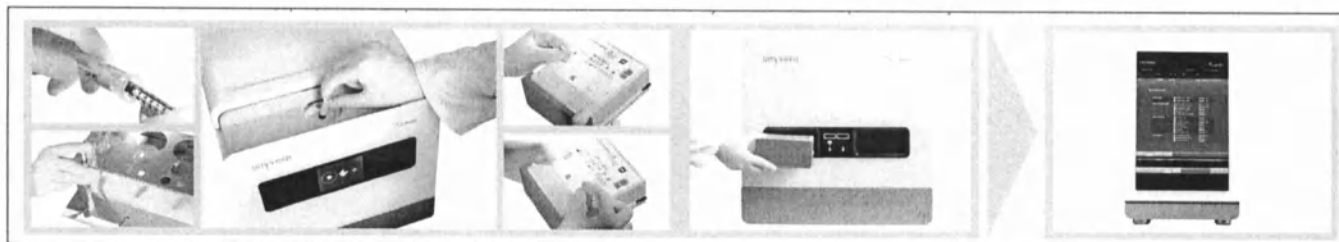


Рисунок 3. Порядок работы

3.4 Операционная система Unyvero™

На рисунке 4 представлено изображение экрана Операционной системы Unyvero™ в состоянии **Active Tests (Активные тесты)**. Каждая строка обозначает активный анализ. Цвет строки отражает текущий статус исследования.

При нажатии на статусную строку анализа, она раскрывается и показывает дополнительную информацию об этом тесте (Рисунок 5). Тип отображаемой информации зависит от текущего статуса выбранного теста.

Серые строки указывают на протекающий или окончившийся этап лизирования образца. Фиолетовые – на протекающий этап анализа. Оконченные тесты обозначаются синим. При нажатии на синюю строку, результаты анализа отображаются на экране.



Рисунок 4. Вид экрана Активные тесты программного обеспечения Операционной системы Unyvero™

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

ки, иллюстрирующие неоконченные тесты, прерванные пользователем, или незавершенные из-за технических проблем, окрашиваются в оранжевый цвет.



Рисунок 5. Информация, выводимая на экран, открытием статусной строки, соответствующей тесту



Рисунок 6. Экранные сенсорные клавиши управления

Экранные сенсорные клавиши управления

Login/Logout	Позволяет пользователю войти или выйти из системы.
Active Tests	Отображает список всех активных тестов.
New Test	Начать новый тест.
Saved Tests	Отображает список и результаты предыдущих тестов.
Advanced Functions	Позволяет регистрировать пользователей и устройства, предоставляет доступ к отчетам о состоянии подключенных модулей системы.
△▽	Клавиши прокрутки. Позволяют перемещаться по спискам, выходящим за рамки доступного пространства на экране.

Пользовательский интерфейс и обозначения

При открытии строки текущего теста (нажатием на нее), отображаются следующие символы. Каждый символ иллюстрирует определенный процесс и представляет собой определенный этап анализа. Если процесс активен в данный момент, то соответствующий символ обозначается зеленым цветом. Галочка в соответствующем окне обозначает завершение этапа. Если этап был выполнен некорректно, окно загорается оранжевым цветом и отмечается крестом.

Таблица 2 Символы, отображающие этапы анализа



Данный символ обозначает этап рабочего процесса, в течение которого Пробырка для образца Unyvero™ должна быть отсканирована и вставлена в Модуль для лизирования Unyvero™.



Данный символ обозначает этап рабочего процесса, в течение которого происходит разрушение (лизирование) образца при помощи Модуля для лизирования образца Unyvero™.



Данный символ выделяется цветом, когда от пользователя требуется собрать Картридж, отсканировать его, и вставить Картридж в разъем Анализатора.



Данный символ обозначает этап выделения ДНК в Картридже Unyvero™.



Данный символ обозначает этап течения мультиплексной ПЦР в Картридже Unyvero™.



Данный символ обозначает этап детекции ампликонов (продуктов ПЦР) методом ДНК-микрочип в Картридже Unyvero™.

3.5 Факты о пневмонии

Пневмония является острой инфекцией с высоким уровнем заболеваемости, чаще всего вызываемой бактериями. У 5% поступивших в больницу пациентов развивалось это быстро прогрессирующее заболевание. Уровень смертности превышает 30%¹, а среднее время пребывания в стационаре от 11 до 14 дней¹.

Действующим на данный момент стандартом для диагностики пневмонии является культуральная диагностика для выявления бактерий и устойчивости к антибиотикам. Тем не менее, обычно этот процесс занимает как минимум 2-5 дней. Без этих диагностических сведений большинство методов лечения пневмонии опирается только на эмпирические решения, которые приводят к высокому уровню (~40%)² изначально недостаточного лечения антибиотиками. Исследования показали, что раннее, соответствующее и правильное лечение может значительно сократить и смертность и продолжительность пребывания в стационаре³.

Для улучшения диагностики пневмонии Приложение Unyvero™ Pneumonia Application:

- » Позволяет проводить анализ мокроты, аспирата из трахей, бронхоальвеолярного лаважа и образцов материала, забранного защищенной щеткой-катетером.
- » Проведение всех аналитических стадий происходит в закрытой системе, тем самым снижая количество совершаемых вручную действий до нескольких простых шагов;
- » Одновременно выявляет и идентифицирует из образца от пациента различные микроорганизмы и гены их устойчивости к антибиотикам примерно за 4 часа.

3.6 Панель Unyvero™ Pneumonia Panel

Панель обнаружения микроорганизмов и генов устойчивости разработана на основе анализа данных, опубликованных в литературе, и следующих принципах:

- » CDC: Профилактика Healthcare-Associated Pneumonia⁴
- » American Thoracic Society: HAP, VAP, HCAP Guideline⁵

¹Kollef et al, Chest, Vol 115 (1999)

²Kollef et al, Chest, Vol 128 (2005)

³Rello et al, Am J Respir Crit Care Med, Vol 176 (1997)

⁴Talan et al, MMWR Recomm Rep, Vol 53 (2004)

⁵Siegel et al, Am J Infect Control, Vol 35 (2007)

- » CAP Guideline, Paul-Ehrlich-Gesellschaft (Germany)
- » European Respiratory Society: Lower Respiratory Tract Infections
- » British Society of Antimicrobial Chemotherapy: HAP Guideline
- » Canadian Guideline Committee: VAP Diagnosis and Treatment.

Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge выявляет следующие микроорганизмы: *Acinetobacterbaumannii*, *Chlamydophilapneumoniae*, *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Haemophilusinfluenzae*, *Klebsiellapneumoniae*, *Klebsiellaoxytoca*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Morganellamorganii*, *Pneumocystis jirovecii*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratiamarcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonasmaltophilia* и *Streptococcus pneumoniae*. Одновременно с этим, в том же картридже определяются и следующие гены, связанные с устойчивостью к антибиотикам: *ctx-M*, *dha*, *ebc*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *gyrA83*, *gyrA87*, *int1*, *kpc*, *mecA*, *me-fA/E*, *msrA*, *оха51-подобные*, *parC*, *shv*, *sul1*, и *tem*. Маркеры устойчивости на Панели и возможные результаты устойчивости к антибиотикам представлены в таблице 3:

Таблица 3 Маркер устойчивости Панели Unyvero™ Pneumonia Panel

Маркер	Потенциальная устойчивость	Источник сведений
<i>ctx-M</i>	Цефалоспорины 3го поколения, Пенициллины	Bonnet et al, Antimicrob Agents Chemother, Vol. 45(8) (2001)
<i>dha</i>	Цефалоспорины 3го поколения, Пенициллины	Pérez-Pérez et al, J ClinMicrobiol, Vol. 40(6) (2002)
<i>ebc</i>	Цефалоспорины 3го поколения, Пенициллины	Pérez-Pérez et al, J ClinMicrobiol, Vol. 40(6) (2002)
<i>ermA</i>	Макролиды / Линкозамины	Roberts et al, FEMS MicrobiolLett, Vol 282(2) (2008)
<i>ermB</i>	Макролиды / Линкозамины	Roberts et al, FEMS MicrobiolLett, Vol 282(2) (2008)
<i>ermC</i>	Макролиды / Линкозамины	Roberts et al, FEMS Microbiol Lett, Vol 282(2) (2008)

<i>gyrA83</i> of <i>E. coli</i> – 1 маркер, <i>P. aeruginosa</i> – 2 независи- мых маркера	Фторхинолоны	Kugelberg et al, J Antimicrob Che- mother, Vol.55(1) (2005), Yu et al, J ClinMicrobiol, Vol.42(9) (2004)
--	--------------	--

Маркер	Потенциальная устойчивость	Источник сведений
<i>gyrA87 E. coli</i> 1 маркер, <i>P. aeruginosa</i> 2 независимых маркера	Фторхинолоны	Kugelberg et al, J Antimicrob Chemother, Vol.55(1) (2005), Yu et al, J Clin Microbiol, Vol.42(9) (2004)
<i>int1</i>	Множественная лекарственная устойчивость	Fluit et al, Clin Microbiol Infect, Vol 10(4) (2004)
<i>kpc</i>	Карбапенем	Queenan et al, Clin Microbiol Rev, Vol. 20(3) (2007)
<i>mecA</i>	Оксациллин	Carvalho, Braz J Infect Dis, Vol. 14(1) (2010)
<i>mefA/E</i>	Макролиды	Jenkins et al, Emerg Infect Dis, Vol. 15(8) (2009)
<i>msrA</i>	Макролиды	Leclercq et al, Antimicrob Agents Chemoth, Vol.35(7) (1991)
<i>oxa51 like</i>	Карбапенем	Walther-Rasmussen et al, J Antimicrob Chemother, Vol.57(3) (2006)
<i>parC</i>	Фторхинолоны	Kugelberg et al, J Antimicrob Chemother, Vol.55(1) (2005)
<i>shv</i>	Пенициллины, Цефалоспорины 3го поколения	Gupta et al, Indian J Med Res, Vol. 126(5) (2007)
<i>sul1</i>	МЛУ / Сульфонамиды	Bennett et al, Br J Pharmacol, Vol. 153 Suppl 1 (2008)
<i>tem</i>	Пенициллины, Цефалоспорины 3го поколения	Gupta et al, Indian J Med Res, Vol. 126(5) (2007)

Мультиплексные реакции ПЦР для выявления микроорганизмов и их маркеров устойчивости проходят в восьми несообщающихся ПЦР-емкостях (Рисунок 7). Расположение анализов в емкостях приведено в таблице 4.

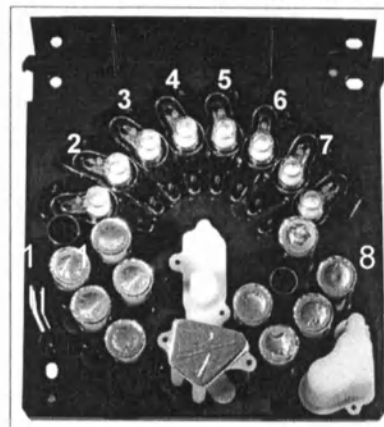


Таблица 4 Генетические маркеры по ПЦР-емкостям

Рисунок 7 ПЦР-емкости 1-8

Емкость 1	Емкость 2	Емкость 5	Емкость 6
<i>gyrA</i> (<i>E. coli</i>)	<i>gyrA</i> (<i>E. coli</i>)	<i>ermC</i>	<i>shv</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>P. jirovecii</i>	<i>gyrA</i> (<i>P. aeruginosa</i>)
<i>kpc</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>gyrA</i> (<i>P. aeruginosa</i>)	<i>M. morganii</i>
<i>ctx-M</i>	<i>ermB</i>	<i>E. coli</i>	<i>oxa51-like</i>
	<i>L. pneumophila</i>	<i>dha</i>	<i>H. influenzae</i>
Емкость 3	Емкость 4	Емкость 7	Емкость 8
<i>Proteus</i> sp.	<i>M. catarrhalis</i>	<i>mecA</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>sul1</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>
<i>gyrA</i> (<i>P. aeruginosa</i>)	<i>S. pneumoniae</i>	<i>mefA</i>	<i>ermA</i>
<i>int1</i>	<i>gyrA</i> (<i>P. aeruginosa</i>)	<i>parC</i>	<i>Tem1</i>
<i>C. pneumoniae</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>ebc</i>	<i>msrA</i>

3.7 Принцип исследования

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application подвергает автоматической обработке и проводит в одноразовом картридже восемь параллельных мультиплексных ПЦР с детекцией «по конечной точке», подсчитывает количество искомых ампликонов после гибридизации на зонде.

- » Образец пациента переносится в Пробирку для образца Unyvero™ с помощью Наконечника для переноса образца Unyvero™, закрывается Крышкой к пробирке для образца Unyvero™, и лизируется в Модуле для лизирования Unyvero™ Lysator.
- » Следом за этим, Пробирка для образца Unyvero™ и Пробирка Мастер Микс Unyvero™ вставляются в Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge.
- » Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge вставляют в Анализатор Unyvero™, который его автоматически обрабатывает.

Прилагаемая операционная система направляет пользователя в течение всей работы. Считыватель штрих-кода позволяет вводить данные пациента, проверяет срок годности расходных материалов и запоминает номера их лотов.

ВЫПОЛНЕНИЕ АНАЛИЗА

 © CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

В данной главе описывается, как проводить анализ с использованием Приложения Unyvero™ Pneumonia Application.

4.1 Подготовка

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Никогда не используйте компоненты после истечения срока годности. Не используйте расходные материалы, если почувствовали, что они влажные или заметили, что упаковка повреждена. Вскройте герметичную упаковку только непосредственно перед использованием.

Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge, Пробирка для образца Unyvero™, Крышка к пробирке для образца Unyvero™, Пробирка Мастер Микс Unyvero™ и Наконечника для переноса образца Unyvero™ предназначены для проведения однократного исследования только одного пациента. Повторно не использовать!

ПРИМЕЧАНИЕ Если у какого-то из компонентов истек срок годности, то исследование Приложения Unyvero™ Pneumonia Application не может быть запущено.

Материалы Unyvero™

До начала анализа убедитесь, что у Вас есть следующие расходные материалы и аксессуары, которые являются составными частями Приложения Unyvero™ Pneumonia Application:

- » Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge – 1 шт.
- » Пробирка для образца Unyvero™ - 1шт.
- » Крышка к пробирке для образца Unyvero™ - 1 шт.
- » Пробирка Мастер Микс Unyvero™ - 1 шт.
- » Наконечник для переноса образца Unyvero™ -1 шт.

ПРИМЕЧАНИЕ Паспорта безопасности (MSDS) к Картриджу Unyvero™ Cartridge, Пробирке для образца Unyvero™, Пробирке Мастер Микс Unyvero™ и Крышке к пробирке для образца Unyvero™ предоставляются по запросу к компании Curetis AG.

Необходимые, но не поставляемые материалы
Для выполнения анализа Вам необходимы:

- » образец (собранный в специальный стерильный контейнер)
- » 1 мл шприц Луер-Лок
- » Личные средства защиты (одноразовые перчатки, лабораторный халат, защитные очки) и оборудование для работы с инфекционными материалами как указано в рекомендациях, установленных в вашем учреждении.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Пока образец не перенесен в Пробирку для образца Unyvero™, и не закрыт Крышкой, существует опасность взаимодействия с инфекционными материалами. Обработка таких биологических образцов, как мокрота, аспират трахеи и бронхиальный лаваж, может привести к риску заражения.

Ручная обработка всех биологических образцов, включая внешнюю поверхность Пробирок для образцов, следует считать потенциально инфекционными. Следуйте инструкциям вашего учреждения для обработки биологических образцов. Также следуйте местным инструкциям по работе с потенциально инфекционным материалом. При работе с образцами и реагентами необходимо носить защитные одноразовые перчатки, лабораторный халат и защитные очки. Тщательно мойте руки после завершения работы.

Система Unyvero™

В этом разделе описаны основные шаги для запуска оборудования и операционной системы Приложения Unyvero™ Pneumonia Application.

Если оборудование еще не запущено, включите его следующим образом:

1. Анализатор Unyvero™ Analyzer, используя переключатель в нижнем правом углу на передней панели прибора.
2. Модуль для лизирования Unyvero™ Lysator, используя переключатель в нижнем левом углу на задней панели прибора.
3. Управляющая рабочая станция Unyvero™ Cockpit, используя переключатель в нижнем правом углу на задней панели прибора.

Для получения дополнительной информации о работе с приборами, обратитесь к Руководству Пользователя Unyvero™ Guide.

ПРИМЕЧАНИЕ Перед началом исследования, убедитесь, что на компьютер установлен соответствующий программный модуль (например Пневмония).

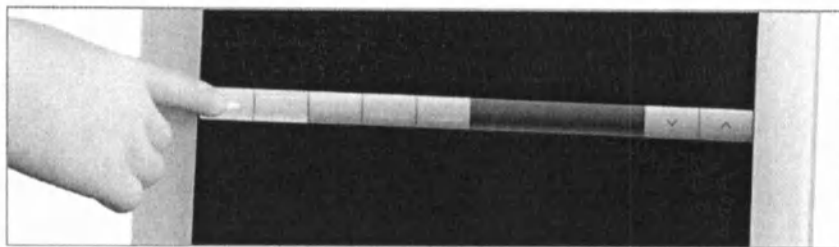


Рисунок 8 Запуск теста

Для запуска теста, пожалуйста, выполните следующие действия:

- 1 На стартовом экране нажмите "Вход в систему" (Рисунок 8)
- 2 На следующем экране введите Ваше имя пользователя и пароль с помощью интегрированной экранной клавиатуры. Затем нажмите **ОК**. После этого, Вы получаете доступ к экрану для ввода тестовых данных (Рисунок 9).



Figure 9 Test inputscreen

ПРИМЕЧАНИЕ Перед началом лизирования, убедитесь, что Вы взяли Пробирку Мастер Микс Unyvero™ из холодильника. Обратите внимание на раздел "Подготовка Пробирки Мастер Микс Unyvero™" на стр.37.

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

4.2 Хранение образцов



Рисунок 10 Первичные контейнеры для образцов

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ По возможности храните образцы при температуре 2° - 8°C, в том числе и при транспортировке в лабораторию. Независимо от условий хранения, использовать образцы, взятые более 12 часов назад, не рекомендуется. Анализируйте за один раз образцов не больше, чем есть свободных гнезд в Анализаторе Unyvero™ Analyzer.

4.3 Транспортировка образцов

Вы можете перенести образец в Пробирку для образца Unyvero™ с использованием или без Наконечника для переноса образца Unyvero™. Будьте внимательны, чтобы не произошла контаминация образца с внешними микроорганизмами.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Не вынимайте Наконечник для переноса образца Unyvero™ из упаковки преждевременно.

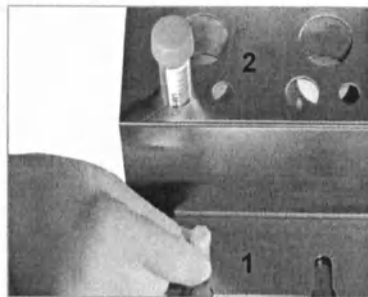


Рисунок 11 Установка Пробирки для образцов Unyvero™

В Штативе-держателе пробирок для образца Unyvero™ расположены четыре ячейки для Пробирок для образцов Unyvero™ (1) (Рисунок 11). За каждой из этих ячеек расположены отверстия, куда вставляются первичные контейнеры с образцами пациентов. (2).

 Достаньте Пробирку для образца Unyvero™ из упаковки.

 Щелкните по верхней части Пробирки для образца Unyvero™, чтобы убедиться в отсутствии жидкости в Крышке к пробирке для образца Unyvero™.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Не встряхивайте на вортексе и не центрифугируйте Пробирку для образца Unyvero™ с Крышкой к пробирке для образца Unyvero™.

 Поместите Пробирку для образца Unyvero™ в Штатив-держатель Unyvero™, вставив пробирку в пустую ячейку (Рисунок 11).

 Установите первичный контейнер с образцом пациента в Штатив-держатель Unyvero™ в наиболее подходящее место в его верхней части.

 Снимите Крышку с Пробирки для образца Unyvero™ и отправьте на утилизацию.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Не прикасайтесь к Наконечнику для переноса образца Unyvero™ при его извлечении из упаковки. Убедитесь, что Наконечник для переноса образца Unyvero™ не контаминирован, чтобы не внести инородный генетический материал в анализируемые образцы. Обратите внимание на правила работы в стерильных условиях.



Откройте упаковку Наконечника для переноса образца Unyvero™ Sample Transfer Tool, стараясь как можно меньше ее повредить, и плотно соедините Наконечник Unyvero™ с 1 мл шприцем с разъемом Луэр-Лок.

ПРИМЕЧАНИЕ Если Наконечник для переноса образца Unyvero™ прилегает недостаточно плотно, набрать воздух или образец будет невозможно.

Переместите образец в Пробирку для образца Unyvero™ с помощью Наконечника для переноса образца Unyvero™ следующим образом:

Сначала наберите 50 мкл воздуха в шприц.

Вставьте Наконечник Unyvero™ в образец и наберите ровно 180 мкл образца в шприц (Рисунок 12).

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Не используйте более 200 мкл образца, так как пробирка может переполниться.

ПРИМЕЧАНИЕ Для вязких образцов используйте Наконечник Unyvero™ со скошенным концом, чтобы сдвинуть лишнее на стенки контейнера.

Осторожно вставьте Наконечник Unyvero™ в Пробирку для образца Unyvero™, до упора.

Медленно вставьте образец в Пробирку для образца Unyvero™ (Рисунок 13).

Утилизируйте шприц с Наконечником Unyvero™ в соответствии с рекомендациями, установленными вашим учреждением или местными властями.



Рисунок 12 Drawing a specimen

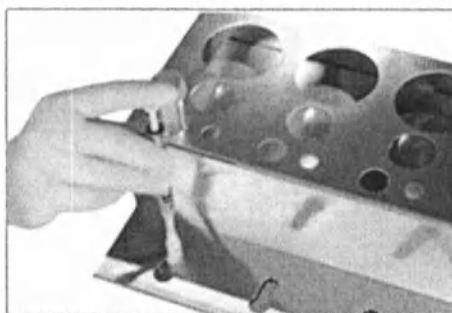


Рисунок 13 Transferring a specimen

00118 V2.0

- Достаньте Пробирку для образца Unyvero™ из упаковки.



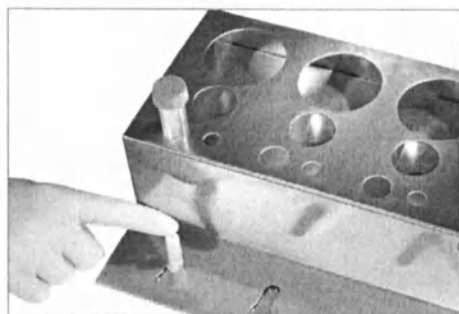
ПРИМЕЧАНИЕ В нижней части Крышки к пробирке для образца Unyvero™ (1) (Рисунок 14) расположены 2 маленьких отверстия. Кроме этого, в верхней части Пробирки для образца Unyvero™ есть два «носики» (2). Убедитесь, что «носики» герметично закрыты.

Рисунок 14 Пробирка для образца Unyvero™

- Закройте Крышку к пробирке для образца Unyvero™ до щелчка (Рисунок 15).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Любой контакт с образцом является потенциально инфекционным. Перед продолжением удостоверьтесь, что Пробирка для образца Unyvero™ снаружи не загрязнена.

Также ознакомьтесь с паспортом безопасности (MSDS) Образца Unyvero™. Когда из Пробирки для образца Unyvero™ уже извлечена Транспортная крышка Unyvero™, реагенты, рискующие т вылиться, могут вызвать раздражение или повредить кожу. При попадании химических веществ из Крышки к пробирке для образца Unyvero™ на кожу или в глаза, незамедлительно промойте их большим количеством воды.



ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Убедитесь, что Крышка к пробирке для образца Unyvero™ плотно закрыта. Неплотно закрытая Крышка Unyvero™ создает риск контаминации и может вызвать повреждения одуля для лизирования.

ПРИМЕЧАНИЕ Не пытайтесь повторно открывать Unyvero™ Sample Tube.

Рисунок 15 Фиксация Пробирки для образца Unyvero™

сидж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

4.4 Начало теста

На сенсорном экране монитора, внизу экрана, нажмите **Новый Тест**. (Рисунок 16)

Проведите сканирование первичного образца пациента.

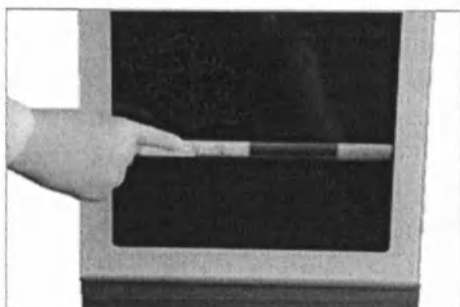


Рисунок 16 Началo нового теста



Рисунок 17 Сканирование пробирок с образцами

ПРИМЕЧАНИЕ Если Вы не проводите сканирование ID образца, Вы можете внести его вручную в поле «ID образца» с помощью экранной клавиатуры. Также, Вы можете добавлять примечания в поле «Комментарий».

Алгоритм:

Когда всплывет напоминание, поднесите штрих-код Пробирки для образца Unyvero™ к считывателю штрих-кодов (Рисунок 17).

Справа от окна «**Тип Теста**» нажмите, например, кнопку **Пневмония**.

Справа от окна «**Тип образца**», нажмите на кнопку, соответствующую вашему типу образца, например, **Мокрота**

После введения всей информации, нажмите **Пуск**.

Если срок годности Пробирки для образца Unyvero™ истек, Операционная система Unyvero™ регистрирует эту информацию, после чего начните исследование заново с новой Пробиркой для образцов Unyvero™.

4.5 Размораживание Пробирки Мастер Микс

ПРИМЕЧАНИЕ Пробирку Мастер Микс Unyvero™ необходимо хранить при температуре -20°C в случае долгосрочного хранения (> 7 дней) и 4°C в случае коротких сроков (< 7 дней).

-  Перед началом лизирования, достаньте одну из Пробирок Мастер Микс Unyvero™ из морозильника.
-  Предварительно дайте Пробирке Мастер Микс Unyvero™ оттаять 30 минут при комнатной температуре - за время лизирования образца.

4.6 Лизирование

ПРИМЕЧАНИЕ Прежде чем установить Пробирку для образцов Unyvero™ в Модуль для лизирования Unyvero™ проверьте наличие грязи и протечек. Если отверстие для пробирки в Модуле для лизирования Unyvero™ Lysator загрязнено, протрите его ватным тампоном, смоченным в 70% этиловым спиртом. Перед продолжением теста, убедитесь, что этанол испарился.

К процессу лизирования следует приступать только тогда, когда в Анализаторе Unyvero™ Analyzer есть свободное отверстие. Начав проводить лизирование на Модуле для лизирования Unyvero™ Lysator, следующее возможно начать не ранее, чем через 30 мин.

После сканирования пробирки с образцом, крышка Модуля для лизирования Unyvero™ автоматически открывается, позволяя загрузить следующую пробирку.

Появляется диалоговое окно **'Перенесите Пробирку для образца в Модуль для лизирования'** (Рисунок 18), предлагая вставить Пробирку для образца Unyvero™.

Отведите защитную заслонку и вставьте Пробирку для образца Unyvero™ в Модуль для лизирования Unyvero™ Lysator до упора.

Верните защитную заслонку назад и убедитесь, что она находится в своей первоначальной позиции и закрывает Пробирку для образца Unyvero™ полностью.

Закройте крышку Модуля для лизирования Unyvero™.

При наличии свободного отверстия как в Модуле для лизирования Unyvero™ Lysator, так и в Анализаторе Unyvero™ Analyzer, операционная система показывает всплывающие окна, предлагая лизировать следующий образец.



Рисунок 18 Требования к постановке Пробирок для образцов Unyvero™ в Модуль для лизирования Unyvero™ Lysator

ПРИМЕЧАНИЕ При открытой крышке Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator, анализ притановится.



Рисунок 19 Установка Пробирок для образцов Unyvero™ в Модуль для лизирования Unyvero™

- ✚ Если Вы собираетесь вставить следующую Пробирку для образца Unyvero™, нажмите **Да**, и повторите ранее описанные действия
- ✚ Если не собираетесь лизировать дополнительный образец, нажмите **Нет**.
- ✚ После установки всех Пробирок для образцов Unyvero™ для текущего лизирования, закройте крышку Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator. Лизис образцов начнется автоматически.

4.7 Ход лизирования



Figure 20 Дисплей Модуля для лизирования Unyvero™ display

Весь процесс лизирования занимает примерно 30 минут. Текущее состояние лизирования образцов пациентов отображается статусными строками серого цвета на экране (Рисунок 4).

Оставшееся время и условия течения процесса, показаны на маленьком экране Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator (Рисунок 20).

4.8 Извлечение образцов

После завершения лизирования серая строка состояния Управляющей рабочей станции Unyvero™ закрывается. При нажатии на нее, крышка Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator автоматически открывается и его экран, как и дисплей Управляющей рабочей станции Unyvero™ (Рисунок 21) предлагает извлечь Пробирку для образца Unyvero™.

Нажмите на серую строку состояния, соответствующую образцу, который хотите проанализировать и крышка Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator откроется.



Рисунок 21 Требования к извлечению Пробирок для образцов Unyvero™ в Модуль для лизирования Unyvero™ Lysator

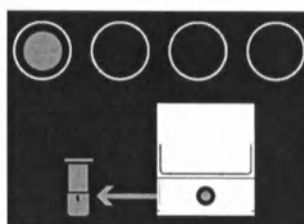


Рисунок 22 Дисплей Модуля для лизирования Unyvero™

-  Оттяните защитную заслонку крышки и достаньте Пробирку для образца Unyvero™. Верните заслонку в первоначальное положение.
-  Закройте крышку Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator.

Если Вы установили больше Пробирок для образцов Unyvero™, сначала соберите картридж для исследования образца, который вы только что вынули из Модуля для лизирования. После установки этого картриджа в Анализатор Unyvero™ Analyzer, можно приступить к исследованию следующей Пробирки для образца Unyvero™.

Повторите действия со следующим образцом. Нажмите на статусную строку состояния лизирования и Модуль для лизирования Unyvero™ Lysator откроется, предоставляя отверстие, следующей Пробирки для образца Unyvero™.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Храните лизированные образцы при комнатной температуре и соберите Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge не ранее, чем за 60 минут до начала исследования.

4.9 Сборка картриджа

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge содержит химические вещества, которые могут вызвать раздражение или поранить кожу в случае повреждения картриджа. При попадании химических веществ на кожу или в глаза, тщательно промойте их большим количеством воды. Не используйте поврежденный Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge. Не используйте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge, если при извлечении из упаковки он влажный или целостность упаковки нарушена. Не открывайте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Проверьте срок годности на этикетках и упаковке Картриджа Unyvero™ Pneumonia Cartridge, Пробирки для образцов Unyvero™ и Пробирки Мастер Микс Unyvero™. Анализ с помощью Приложения Unyvero™ Pneumonia Application заканчивается, если у любого из компонентов истёк срок годности.

Не вскрывайте упаковку Unyvero™ Pneumonia Cartridge и Unyvero™ Master Mix Tube до полной готовности начать анализ.

ПРИМЕЧАНИЕ Также ознакомьтесь с паспортом безопасности (MSDS) Картриджа Unyvero™

Откройте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge.

Если вы этого до сих пор не сделали, достаньте оттаявшую Пробирку Мастер Микс Unyvero™ из упаковки.

Щелкните по верхней части Пробирки Мастер Микс Unyvero™, чтобы удостовериться, что пузырьки воздуха отсутствуют и все жидкости остаются на дне пробирки.



ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Не встряхивайте на ворткексе и не центрифугируйте Пробирку Мастер Микс Unyvero™.

ПРИМЕЧАНИЕ Расходные материалы возможно проверить, используя кнопку «**Проверка расходных материалов**», расположенную снизу тестовой панели. Если после сборки Картриджа Unyvero™ Pneumonia Cartridge вы обнаружили, что срок его годности или срок годности Пробирки Мастер Микс Unyvero™ истек, тест придется начать заново с новой Пробиркой для образцов Unyvero™, новым Картриджем Unyvero™ Pneumonia Cartridge, и новой Пробиркой Мастер Микс Unyvero™.

После извлечения Пробирок для образцов Unyvero™ из Модуля для лизирования Unyvero™ Lysator и захлопывания его крышки, появляется экран, предписывающий собрать картридж (Рисунок 23).

Рисунок 23 Требования к сборке картриджа

- ✎ Вставьте Пробирку с образцом Unyvero™ в отверстие на позицию 1 картриджа (Рисунок 24).
- ✎ Вставьте Пробирку Мастер Микс Unyvero™ в отверстие на позицию 2 картриджа (Рисунок 24).
- ✎ Поднесите штрих-коды Картриджа Unyvero™ Pneumonia Cartridge к верхней части Управляющей рабочей станции и задержите перед считывателем штрих-кодов как показано на рисунке 25.

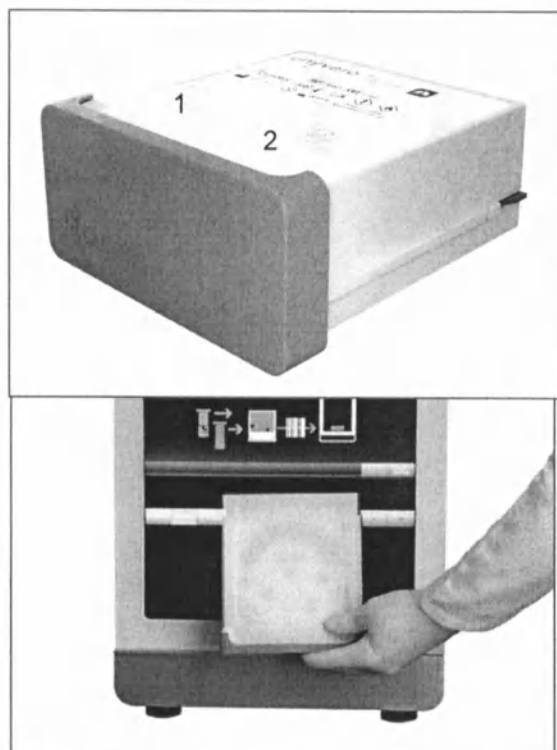


Рисунок 24 Отверстия картриджа

1 – Отверстие для Пробирки с образцом
2 – Отверстие для Пробирки Мастер Микс.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Убедитесь, что собираетесь использовать нужный образец, который только что извлекли из Модуля для лизирования.

ПРИМЕЧАНИЕ Поместите картридж на выступ Управляющей рабочей станции для обеспечения сканирования без каких-либо сложностей (Рисунок 25).

Все штрих-коды (Картриджа Unyvero™ Pneumonia Cartridge, Пробирки Мастер Микс Unyvero™ и Пробирки для образца Unyvero™) считываются Операционной системой Unyvero™ и автоматически синхронизируются и сохраняются с ID образца.

Рисунок 25 Сканирование картриджа

4.10 Измерение

Теперь ОС подскажет отверстие в Анализаторе Unyvero™ Analyzer (Рисунок 26), куда вставить картридж. На маленьком дисплее Анализатора Unyvero™ Analyzer отображается номер. Зеленая стрелочка горит до тех пор, пока Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge не будет установлен (Рисунок 27).



Рисунок 26 Требования к загрузке картриджа в Анализатор Unyvero™ Analyzer

Вставьте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge в отверстие, указанное на маленьком дисплее Анализатора Unyvero™ Analyzer (Рисунок 27), до упора.

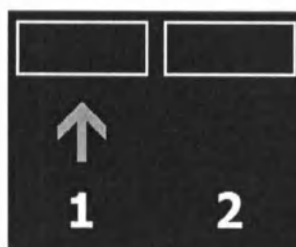


Рисунок 27 Дисплей Анализатора

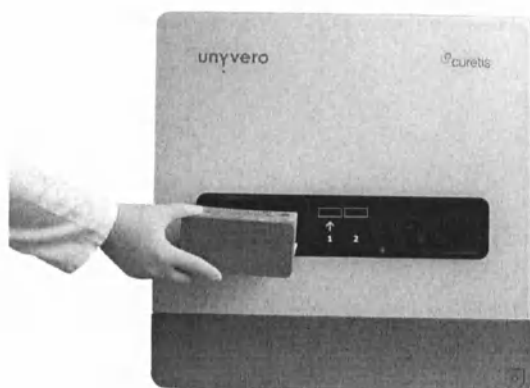


Рисунок 28 Установка Картриджа в Анализатор Unyvero™ Analyzer

4.11 Ход анализа

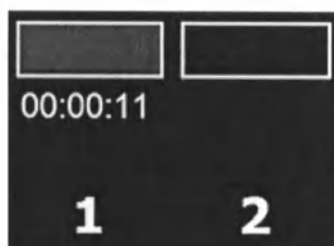
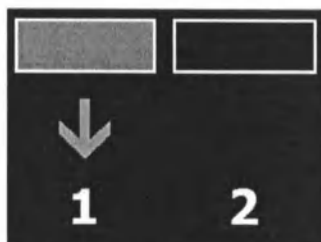


Рисунок 29 Дисплей Анализатора

Полный цикл работы Картриджа Unyvero™ занимает чуть меньше четырех часов. Оставшееся время для каждого отверстия показывается на маленьком дисплее Анализатора Unyvero™ Analyzer (Рисунок 29). Кроме того, пока в Анализаторе Unyvero™ Analyzer ведется обработка Картриджа Unyvero™, ход исследования изображается сиреневой полоской на дисплее.

4.12 Извлечение картриджа



После завершения анализа, в управляющую рабочую станцию, как и на дисплей Анализатора Unyvero™ Analyzer, выводится запрос об удалении картриджа.

На маленьком дисплее Анализатора Unyvero™ Analyzer окошко, соответствующее отверстию, отмечается голубым и стрелочка указывает, что можно извлечь Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge (Рисунок 30).

Рисунок 30 Дисплей анализатора

Извлеките Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge предназначен для одноразового использования, для обработки только одного образца! Не используйте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge повторно.

Утилизируйте Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridges в соответствии с рекомендациями, установленными вашим учреждением или местными властями.

После завершения анализа и извлечения картриджа, статусная строка состояния на экране управляющей рабочей станции становится синего цвета.

ПРИМЕЧАНИЕ После того, как вы открыли синюю строку состояния и закрыли ее снова, исследование будет сохранено во вкладке **Сохраненные Тесты**. Нажмите на клавишу **Сохраненные Тесты** для того, чтобы открыть этот экран.

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

5.1 Доступ к результатам

Полностью проанализированные образцы выделены синими строками состояния на дисплее (**Активные Тесты** или **Сохраненные Тесты**).

Для просмотра результатов нажмите на соответствующую синюю статусную строку состояния (Рисунок 31).



Рисунок 31 Сохраненный экран анализа

Открывшийся экран показывает следующие кнопки (Рисунок 32):

- » Основная информация
- » Микроорганизмы
- » Маркеры устойчивости
- » Информация.



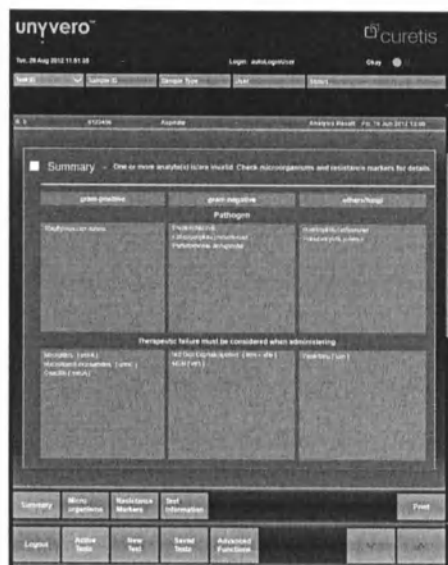
Рисунок 32 Клавиши на экране результатов-

5.2 Считывание результатов

Краткое изложение результатов



Откройте вкладку «**Основная информация**».



Этот экран служит для быстрого просмотра всех обнаруженных (=положительная реакция) микроорганизмов и маркеров устойчивости к антибиотикам.

Верхний экран (Рисунок 33) показывает найденные микроорганизмы, в нижней - приведены классы антибиотиков с положительными маркерами устойчивости

Рисунок 33 Экран «Основная Информация»

Получение дополнительной информации по микроорганизмам

Перейдите на вкладку **Микроорганизмы**, чтобы просмотреть список всех микроорганизмов, которые Приложение Unyvero™ Pneumonia Application способно анализировать.



Слева Микроорганизмы сгруппированы следующим образом (Рисунок 34):

- » Грам-положительные микроорганизмы
- » неферментирующие микроорганизмы
- » Микроорганизмы семейства *Enterobacter*
- » Другие микроорганизмы/Грибы

Наличие или отсутствие микроорганизмов отображается на дисплее следующим образом (Рисунок 34):



Обнаруженные



Необнаруженные



Неверное измерение

Рисунок 34 Экран «Микроорганизмы»

Там, где микроорганизмы обнаружены, интенсивность измеряемого сигнала иллюстрируется тремя окошками справа. Чем больше окошек отмечено зеленым, тем выше интенсивность сигнала. Кроме того, справа от окон указан номер, отражающий мощность сигнала. Также номер отображается в случае, когда сигнал ниже порогового уровня.

Получение дополнительной информации по маркерам устойчивости



Перейдите на вкладку **Маркеры Устойчивости**, чтобы получить обзор всех маркеров устойчивости, которые Приложение Unyvero™ Pneumonia Application может проанализировать.

Маркеры устойчивости сгруппированы следующим образом (Рисунок 35):

1. Гены устойчивости (локализованные на мобильных генетических элементах)
2. Хромосомные мутации (мутации в генах, локализованных в пределах хромосомы)



Наличие или отсутствие микроорганизмов отображается на дисплее следующим образом (Рисунок 35):



Обнаруженные



Необнаруженные



Неверное измерение

В центре экрана перечислены соответствующие классы антибиотиков, для которых должен быть учтен неблагоприятный исход лечения, если они будут назначены. На экране справа отображаются общие микробные источники маркеров устойчивости.

Рисунок 35 Экран Маркеров Устойчивости

Гены устойчивости к антибиотикам, локализованные на мобильных генетических элементах

Большинство маркеров устойчивости, которые определяются Приложением Unyvero™ Pneumonia Application, это гены, которые переносятся мобильными генетическими элементами, такими как плазмиды и интегроны⁶. Наличие таких генов коррелирует с устойчивостью к частым классам антибиотиков⁷. В таблице 5 перечислены маркеры устойчивости, которые определяются Приложением Unyvero™ Pneumonia Application.

Таблица 5 Маркеры устойчивости на Панели Unyvero™ Pneumonia Panel

Ген	Возможная устойчивость	Общие микробные источники
<i>tem</i>	β-Лактамы	Грам-отрицательные бактерии
<i>shv</i>	β-Лактамы	Грам-отрицательные бактерии
<i>ctx-M</i>	β-Лактамы	Грам-отрицательные бактерии
<i>ebc</i>	β-Лактамы	Грам-отрицательные бактерии
<i>dha</i>	β-Лактамы	Грам-отрицательные бактерии
<i>kpc</i>	Карбапенемы	Грам-отрицательные бактерии
<i>oxa51 like</i>	Карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>mecA</i>	Оксациллин	<i>Staphylococcus</i>
<i>mefA/mefE</i>	Макролиды	<i>Streptococcus</i>
<i>msrA</i>	Макролиды	<i>Staphylococcus</i>
<i>ermA/ermB/ermC</i>	Макролиды/Линкозамиды	<i>Staphylococcus</i>
<i>int1</i>	МЛУ	Грам-отрицательные бактерии
<i>sul1</i>	Сульфонамиды	Грам-отрицательные бактерии

⁶ Roberts, Front Microbiol, Vol. 2 (2011)

⁷ Maiden, MolBiotechnol, Vol. 18 (2001)

Устойчивость к антибиотикам, основанная на мутациях в генах, локализованных в пределах хромосомы

Мутации в генах, кодирующие бактериальную гиразу и топоизомеразу IV, часто являются механизмами устойчивости к антибиотикам, действующим по принципу ингибирования гиразы (например, антибиотикам группы фторхинолонов). Такие мутации не влияют на работу самих ферментов, но наличие таких мутаций препятствует связыванию антибиотиков, действующих по принципу ингибиторов гиразы (например, фторхинолонов). Таким образом, антибиотики теряют эффективность. Такая возможность сохранения функциональной целостности фермента с одновременным приобретением механизма устойчивости к антибиотикам является следствием мутаций в горячей точке. В связи с этим, Приложение Unyvero™ Pneumonia Application определяет следующие локусы:

- » Субъединица A бактериальной гиразы: *gyrA*, кодоны 83 и 87
- » Топоизомераза IV: *parC*, кодон 80⁸.

Эти мутации – точечные. Изменяется только одно основание в последовательности ДНК, но это изменение может быть разнообразно. Приложение Unyvero™ Pneumonia Application определяет последовательность дикого типа, которая кодирует гиразу, чувствительную к ингибитору (антибиотику). Таким образом, Приложение Unyvero™ Pneumonia Application определяет чувствительность к ингибиторам гиразы (например, фторхинолонам), но не устойчивость к ним.

Последовательности ДНК этих генов различны у разных микроорганизмов, потому что мутации располагаются в хромосомных генах. Приложение Unyvero™ Pneumonia Application диагностирует устойчивость только у следующих бактерий: *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*.

- » В *Escherichia coli* исследуются кодоны 83 и 87 (*gyrA83* и *gyrA87*) субъединицы A гиразы
- » В *Pseudomonas aeruginosa*, анализируются кодоны 83 и 87 в двух вариантах (*gyrA83_2*, *gyrA83_3* и *gyrA87_2*; *gyrA87_3*) субъединицы A гиразы. Кроме того анализируется кодон 80 топоизомеразы IV (*parC*).

⁸Kugelberg et al, J Antimicrob Chemother Vol. 55 (2005)

Следовательно, чувствительные к антибиотикам *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* будут демонстрировать положительный результат ПЦР, при анализе на присутствие генов дикого типа гиразы, а, в случае, *Pseudomonas aeruginosa* – присутствие генов дикого типа топоизомеразы IV. В случае если хотя бы один из этих маркеров не обнаруживается, организм рассматривается как устойчивый.

Присутствие или отсутствие последовательности дикого типа хромосомных маркеров отображается на экране «Маркеры устойчивости» (Рисунок 35) следующим образом:

-  Последовательность дикого типа у маркера не определена (= есть устойчивость)
-  Последовательность дикого типа у маркера определена (= нет устойчивости)
-  Неверное измерение

5.3 Неверные измерения

Unyvero™ System контролирует качество анализов различными способами. Если не были выполнены определенные критерии или Картридж Unyvero™ Pneumonia Cartridge не был обработан должным образом, отдельные аналиты отмечаются как недействительные красным крестом.

- » Если контроль не удался все аналиты данной ячейки, отмечаются как недействительные.
- » Если в мембране есть отверстия или трещины, то частицы пыли на матрице мембраны или сложности, возникающие во время отмывания мембраны и обнаружения, не могут быть выполнены должным образом.
- » Если ряд контрольных механизмов оптической системы в процессе определения флуоресцентного свечения методом ДНК-микрочип не срабатывает.

СООТВЕТСТВИЕ ЕВРОПЕЙСКИМ СТАНДАРТАМ

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0

За период доклинических испытаний и получения CE сертификатов, оценивающих эффективность исследования, Картриджи Unyvero™ P50 Pneumonia Cartridges для диагностики пневмонии анализировали с различными консервированными и свежими образцами (мокрота, аспират трахеи, бронхоальвеолярный лаваж). В общей сложности, испытания проводились более чем на 300 Картриджах Unyvero™ Pneumonia Cartridges.

6.1 Аналитические характеристики метода: пороговая чувствительность

Пороговая чувствительность для каждого патогена определялись разведением патогена в буфере. При концентрации 10^6 патогенов /мл все аналиты обнаруживались Картриджем Unyvero™ P50 Pneumonia Cartridge. Большинство аналитов также возможно было обнаружить при концентрации 10^4 патогенов /мл (*S. marcescens*, *S. maltophilia*, *A. baumannii*, *L. pneumophila*, *S. aureus*, *M. morgani*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa*).

Пороговая чувствительность обнаружения устойчивости аналитов определялись разведением фрагмента ДНК. При концентрации 10^5 копий/мл были выявлены все устойчивые к антибиотикам аналиты.

6.2 Перекрестная реактивность

При отрицательном результате микробиологического исследования мокроты, аспирата трахеи и бронхоальвеолярного лаважа (N = 30 т.е. 10 для каждого типа образца) никакой патогенной перекрестной реактивности не наблюдалось. Следовательно, образцы человеческой ткани не дают ложно-отрицательный результат.

6.3 Интерферирующие вещества

Интерференты исследовали на модельных образцах с добавлением клинического материала, лекарств, наиболее часто использующихся для лечения болезней дыхательных путей, либо каждый из перечисленных компонентов: например, лизирующем буфере, крови, человеческой

ДНК, и общих дыхательных патогенов, которые могут присутствовать в дыхательных образцах, был индивидуально протестирован с интерферентами.

В Таблице 6 перечислены предположительно исследованные интерференты. Худшие концентрации были использованы в соответствии с CSLI руководства "EP7-A2 Тестирование интерференции в клинической". Интерференция не наблюдалась.

Таблица 6 Предположительно исследованные интерференты

Дыхательные лекарства и антибиотики	Клинические образцы и реагенты лизирования
Ацетил-цистеин	Раствор лактата Рингера (100 %)
Амброксол	NaCl (5 %)
Амикацин	Лизирующий буфер (80 %)
Ампициллин	Образцы
Беклометазон (Ванцерил)	Кровь (100 %)
Карбоцистеин	ДНК из человеческой плаценты (1 мг/мкл)
Цефуроксим	Бактериальные штаммы (1×10^7 мл)
Ципрофлоксацин	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Декстрометорфан	<i>Staphylococcus aureus</i>
Эритромицин	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Гвайфенезин	<i>Haemophilus influenzae</i>
Имипенем	
Сальбутамол	
Сульфаметизол	
Теofilлин	
Тремеприм	

6.4 Воспроизводимость

Воспроизводимость для всех 39 аналитов оценивалась 13-ю репликонами с использованием разведения фрагмента ДНК (10^5 копий/мл) в качестве образцов, потом рассчитывался сигнал

стандартных отклонений. Картридж Unyvero™ P50 Pneumonia Cartridge показал среднее стандартное отклонение аналита - 45.1 %.

Чувствительные и устойчивые патогены вносили в 3 различных типах образцов (мокрота, аспират и лаваж) при концентрации 10^5 патогенов/мл. Общее обнаружение патогенов и устойчивости аналитов составило > 85 %.

6.5 Чувствительность и Специфичность

Для 186 замороженных и свежих нативных клинических образцов пациентов результаты исследований на Картридже Unyvero P50™ Pneumonia Cartridge сравнивались со стандартными микробиологическими культуральными результатам. В 158 случаях патогены были обнаружены стандартным микробиологическим культивированием.

Приложение Unyvero™ Pneumonia Application достигает общей чувствительности 75.5 % (чувствительность на аналит между 50 и 100%, в зависимости от типа микроорганизма) и общей специфичности - 95.2% (72.3% - 100%, также в зависимости от типа микроорганизма). Для редких патогенов числа опытов было недостаточно, чтобы установить точные данные по чувствительности и специфичности.

В 73 образцах с помощью Картриджа Unyvero™ Pneumonia Cartridge были обнаружены дополнительные патогены, не отраженные в результатах, полученных микробиологическим методом. Для этих противоречивых результатов были выполнены дальнейший анализ и/прямое секвенирование. Из этих 73 - Unyvero™ положительные, но микробиологически отрицательные образцы, 59 образцов могут быть подтверждены путем секвенирования.

Основываясь на этих данных, общая чувствительность Приложения Unyvero™ Pneumonia Application достигает 80.9%, а общая специфичность - 99.0%.

Для определенных маркеров устойчивости (*mefA*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *tem*, *shv*, *dha*, *oxa51*-подобные, *ctxM*, *tesA*, *ebc*, устойчивости к хинолонам в *E.coli* и *P. aeruginosa*) в 26 случаях из 32 устойчивых к антибиотикам патогенов показана корреляция между результатами, полученными с помощью Unyvero P50™ и антибиотикограммой.

В настоящее время Curetis проводит перспективные европейские клинические испытания в множестве центров для получения большего количества клинических данных о производительности.

© CURETIS AG, 2012

Картридж для диагностики пневмонии P50 Unyvero™
Руководство пользователя

00118 V2.0



Contact:

Curetis AG
Max-Eyth-Str. 42
71088 Holzgerlingen
Germany

Phone: +49 (0)7031 / 49195-10
E-Mail: contact@curetis.com

www.curetis.com



CE

В настоящем документе прошито и
пронумеровано 62 листов
Генеральный директор ООО «БиоЛайн»

Семенов А.В.

