

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по научной
работе - ВРИО директора
Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия
человека



А.В. Горелов

«19» января 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для качественного определения
микобактерий туберкулеза (МБТ) – *Mycobacterium tuberculosis*
complex (MTC) методом изотермической амплификации (ИТ)

AmpliSens® MTC-IT

AmpliSens®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	5
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	7
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	9
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	10
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	12
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....	12
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	13
ФОРМА IT-200	15
СОСТАВ	15
ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	16
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	16
ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	17
А. Подготовка проб для ИТ.....	17
Б. Проведение ИТ с детекцией в режиме «реального времени»	18
В. Анализ и интерпретация результатов.....	19
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	23
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	24
БИБЛИОГРАФИЯ	25
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	26

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ГЭ	- геномный эквивалент (геном)
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИТ	- изотермическая амплификация
К-	- отрицательный контроль ИТ
МАНК	- методы амплификации нуклеиновых кислот
МУ	- методические указания
МБТ (МТС)	- микобактерии туберкулеза (<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>)
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ПК	- положительный контроль экстракции
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РУ	- регистрационное удостоверение
СанПиН	- санитарные правила и нормы
УДГ	- урацил-ДНК-гликозилаза
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
С+	- положительный контрольный образец
С-	- отрицательный контрольный образец
ИТ	- isothermal amplification

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов AmpliSens® МТС-ИТ предназначен для качественного определения микобактерий туберкулеза (МБТ) – *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТС) в биологическом материале (мокрота) методом изотермической амплификации (ИТ) с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Материалом для ИТ служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого биоматериала.

Ограничения по применению медицинского изделия в различных популяционных и демографических группах отсутствуют.

Показания к применению: набор реагентов используется для комплексной лабораторной диагностики туберкулеза.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда взятие материала не может быть осуществлено по медицинским показаниям.

Отрицательный результат исследования не исключает возможность инфицирования микобактериями туберкулеза и

может быть получен при содержании бактерий в образце ниже заявленной аналитической чувствительности.

Потенциальные пользователи медицинского изделия: к работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники с высшим профильным образованием (например, врачи-бактериологи, врачи-медицинские микробиологи, врачи клинической лабораторной диагностики, биологи), специалисты со средним медицинским образованием (например, медицинские технологи, медицинские лабораторные техники (фельдшера-лаборанты), лаборанты), допущенные к работе в лаборатории, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на изотермической амплификации участков ДНК выявляемого микроорганизма с флуоресцентной детекцией ампликонов.

Изотермическая амплификация участка ДНК проводится при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Bst-полимеразы.

В составе реакционной смеси присутствует флуорофор, связывающийся с двухцепочечными продуктами амплификации, что позволяет регистрировать накопление специфического продукта путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью термостата с системой детекции в режиме «реального времени».

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и дезоксиуридинтрифосфата.

ИТ каждого образца проводится в двух пробирках. Амплифицируемые ДНК-мишени и канал детекции флуоресценции указаны в табл. 1.

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM	
Наименование IT-mix	ДНК-мишень	Область амплификации
MTC	ДНК MTC (многокопийные мишени)	Инсерционные элементы MTC IS6110, IS1081
IC	ДНК ВКО	искусственная нуклеотидная последовательность

Возбудитель туберкулеза представляет собой группу близкородственных видов микобактерий – *Mycobacterium tuberculosis* complex – к которому в том числе относится *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. canettii*, а также вакцинный штамм *M. bovis* BCG [1].

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Таблица 2

Характеристика	Форма IT-200
Общее число исследований, включая контроли	200
Тип амплификатора	ротаторный и планшетный

Форма IT-200 предназначена для проведения изотермической амплификации ДНК с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК.

Объем контролей рассчитан на 10 независимых постановок.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Предел обнаружения

Таблица 3

Вид исследуемого материала	Объем образца для экстракции, мкл	Комплект для экстракции ДНК	Комплект для амплификации	Предел обнаружения, ГЭ/мл
Мокрота	100	«РИБО-преп»	Форма IT-200	1×10^3

Примечание – Один геномный эквивалент (геном) соответствует 16 копиям элемента IS6110 и 6 копиям элемента IS1081 [2].

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

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает участок ДНК *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC).

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана

при исследовании ДНК следующих микроорганизмов/штаммов:

- микобактерии, принадлежащие к группе *Mycobacterium tuberculosis* complex: *M. tuberculosis* штамм H37 Ra, *M. bovis* штамм BCG – при исследовании *in vitro* в концентрации не менее 1×10^3 ГЭ/мл; *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. pinnipedii* – при анализе *in silico* нуклеотидных последовательностей области амплификации (гомология 100 %);
- нетуберкулезные микобактерии в концентрации не более 1×10^9 ГЭ/мл и не менее 1×10^5 ГЭ/мл: *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. kansasii*, *M. paratuberculosis*, *M. xenopi*;
- штаммы из коллекции ATCC® (American Type Culture Collection, США) в концентрации не более 1×10^9 ГЭ/мл и не менее 1×10^5 ГЭ/мл: *Acinetobacter baumannii* ATCC® 19606™, *Bordetella bronchiseptica* ATCC® 10580™, *Bordetella pertussis* ATCC® 9340™, *Candida albicans* ATCC® 14053™, *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299™, *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Haemophilus influenzae* ATCC® 9006™, *Klebsiella oxytoca* ATCC® 49131™, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 27736™, *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, *Moraxella catarrhalis* ATCC® 25238™, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 19424™, *Neisseria meningitidis* (Serogroup B) ATCC® 13090™, *Proteus mirabilis* ATCC® 12453™, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 15442™, *Rhodococcus equi* ATCC® 6939™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 P™, *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC® 49907™, *Streptococcus agalactiae* ATCC® 13813™, *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619™, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615™;
- клинические образцы (специфичность подтверждена методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей) в концентрации не более 1×10^9 ГЭ/мл и не менее 1×10^5 ГЭ/мл: *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*;
- ДНК человека в концентрации 10 мкг/мл.

При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов и ДНК человека неспецифических реакций выявлено не было.

Информация об интерферирующих веществах указана в разделе «Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала».

Повторяемость и воспроизводимость исследования

Повторяемость и воспроизводимость исследования были определены путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы содержали смесь стандартных образцов предприятия с концентрацией ДНК МТС (инсерционных элементов МТС IS6110, IS1081) 2×10^3 ГЭ/мл, в качестве отрицательного образца был использован реагент С–.

Условия повторяемости включали в себя тестирование в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Условия воспроизводимости – тестирование в двух независимых лабораториях, разными операторами, в разные дни, на различных приборах и разных серий набора реагентов. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Тип образцов	Повторяемость		Воспроизводимость	
	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %
Положительные	10	100	40	100
Отрицательные	10	100	40	100

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для определения диагностических характеристик набора реагентов были использованы следующие образцы (см. табл. 5):

Таблица 5

Вид исследуемого материала	Количество образцов
Мокрота	60

В качестве референтного метода использовался набор реагентов «АмплиСенс® МТС-FL» (ПУ № ФСР 2010/09556).

Результаты представлены в табл. 6.

Диагностические характеристики набора реагентов AmpliSens® MTC-IT

Вид исследуемого материала	Диагностическая чувствительность ¹ (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность ² (с доверительной вероятностью 95 %)
Мокрота	100 (88,43 – 100) %	100 (88,43 – 100) %

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Набор реагентов предназначен для однократного применения для проведения молекулярного исследования указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в

¹ Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

² Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

установленном порядке.

- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения набора риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку³, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических)

³ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

мероприятий».

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты амплификации) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами амплификации лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

ВНИМАНИЕ! В процессе ИТ образуется больше продуктов амплификации, чем в ПЦР, поэтому требуется особая осторожность при утилизации продуктов ИТ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом не менее 20 мл и диаметром отверстия не менее 35 мм, стерильный.

Предварительная подготовка исследуемого материала

2. Реагент «МУКОЛИЗИН» (РУ № ФСР 2011/12082) для предварительной обработки слизистого материала – в случае последующего проведения только исследования МАНК (ПЦР, ИТ).
3. Реагент для пробоподготовки и деонтаминации мокроты (BBL Mycoprep Kit) (Becton Dickinson and Company («Бектон Дикинсон энд Компани»), США) (РУ № ФСЗ 2009/04403) или 10% водный раствор трехзамещенного фосфорнокислого натрия – в случае последующего проведения комплексного микробиологического исследования МАНК (ПЦР, ИТ) согласно Приказу МЗ РФ от 21.03.2003 № 109.
4. Пробирки с винтовой горловинной крышкой объемом 15 мл.
5. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.
6. Завинчивающиеся крышки к пробиркам.
7. Пастеровская пипетка, объемом не менее 3 мл.
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200 и до 1000 мкл.
9. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.
10. Автоматические дозаторы переменного объема.
11. Бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
12. Центрифуга медицинская лабораторная с ротором для пробирок объемом 15 мл.

13. Центрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс. g.
14. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.
15. Центрифуга-вортекс.
16. Холодильник от 2 до 8°C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16°C.
17. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
18. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

19. Комплект реагентов для экстракции ДНК – «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147).
20. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.
21. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
22. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Изотермическая амплификация с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

23. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
 - а) закручивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки для приготовления реакционной смеси;
 - б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – при использовании прибора планшетного типа;
 - в) планшет на 96 лунок или 384 лунки – при использовании прибора планшетного типа на 96 или 384 лунки соответственно;
 - г) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой.
24. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 10, до 100 и до 200 мкл.
25. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл.

26. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс, УФ-бокс) или бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
27. Центрифуга-вортекс.
28. Автоматические дозаторы переменного объема.
29. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», совместимый с ПО «AmpliSens® RealTime Soft» (ПО ARTS) версии 1.0.0 или выше (например, Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595)), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США (РУ № ФСЗ 2008/03399)), «ДТ-96»/«ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2007/01250, РУ № ФСР 2011/10229)).
30. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
31. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
32. Емкость для сброса наконечников.
33. ПО для запуска амплификации и автоматической обработки результатов AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) версии 1.0.0 или выше.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для исследования служит мокрота.

Мокрота собирается, транспортируется и хранится согласно Приказу МЗ РФ № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ» как для проведения комплексного микробиологического исследования, включая МАНК (ПЦР, ИТ), осуществляемого в специализированных медицинских организациях по профилю «фтизиатрия», так и для исследования МАНК (ПЦР, ИТ), проводимых в лабораториях другого профиля.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

ВНИМАНИЕ! Запрещено переливать потенциально инфицированный материал через край контейнера (пробирки).

В медицинской организации по профилю «фтизиатрия» для образцов мокроты проводится унифицированная

предварительная подготовка для микробиологических исследований согласно Приказу МЗ РФ № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ».

Предобработанные осадки образцов с надосадочной жидкостью делят на аликвоты в объемах, требуемых для проведения микроскопического, культурального и молекулярно-биологического исследований. При взятии аликвоты для молекулярно-биологического исследования следует предусмотреть необходимость повторного анализа, для этого берут не менее чем тройной объем образца.

Для экстракции ДНК в пробирки объемом 1,5-2,0 мл отбирают 100 мкл из ресуспендированных образцов мокроты.

Нативный биологический материал

В медицинской организации, не работающей по профилю «фтизиатрия», но проводящей исследования на туберкулез согласно Приказу МЗ РФ № 951 от 29.12.2014 г., исследуют нативный биологический материал.

Образцы мокроты требуют предварительной подготовки.

Весь образец мокроты подлежит обработке с целью снижения вязкости по инструкции к реагенту «МУКОЛИЗИН». Подготовленную мокроту (100 мкл) используют для экстракции ДНК.

Допускается хранение предобработанного материала до проведения ИТ:

- при температуре от 2 до 8 °С – не более 2 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – длительно.

Допускается двукратное замораживание-оттаивание материала.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ограничения по использованию проб

Ограничения по использованию образцов мокроты согласно Приказу МЗ РФ № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ».

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые могут

присутствовать в биологическом материале (мокрота), используемом для исследования.

Были протестированы модельные образцы мокроты без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Концентрация каждого потенциально интерферирующего вещества указана в табл. 7.

Модельные образцы содержали смесь стандартных образцов предприятия с концентрацией ДНК МТС (инсерционных элементов МТС IS6110, IS1081) 2×10^3 ГЭ/мл.

Таблица 7

Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
Эндогенные вещества	Муцин	5 мг/мл	Не обнаружено
		9 мг/мл	Не обнаружено
		0,75 мг/мл	Не обнаружено
	Кровь	Соотношение образец: кровь 1:1	Не обнаружено
Экзогенные вещества	Гипертонический раствор хлорида натрия	5% (v/v)	Не обнаружено
	Амоксициллин + клавулановая кислота	1125 мкг/мл + 281 мкг/мл	Не обнаружено
	Цефтриаксон	1500 мкг/мл	Не обнаружено
	Рифампицин	9-17,5 мкг/мл	Не обнаружено
	Изониазид	3-7 мкг/мл	Не обнаружено
	Этамбутол	2-5 мкг/мл	Не обнаружено
	Пиразинамид	39 мкг/мл	Не обнаружено
	Офлоксацин	5,2 мкг/мл	Не обнаружено
	Канамицин	22 мкг/мл	Не обнаружено
	ПАСК	75 мкг/мл	Не обнаружено
	Циклосерин	25-30 мкг/мл	Не обнаружено

ФОРМА IT-200**СОСТАВ**

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество пробирок, шт
IT-mix-MTC	Прозрачная бесцветная жидкость (допускается выпадение осадка после размораживания)	1,0	1
IT-mix-IC	Прозрачная синяя жидкость (допускается выпадение осадка после размораживания)	1,0	1
IT-mix-F	Прозрачная жидкость от бесцветного до бледно-желтого цвета	1,0	2
C+ IT-MTC	Прозрачная бесцветная жидкость	0,1	1
C–	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	2
IC	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	2

ПО AmpliSens® MTC-IT Soft версия 1 и руководство оператора – на электронном носителе или на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

Эксплуатационная документация в составе: инструкция по применению, паспорт качества набора реагентов, вкладыши к набору реагентов, краткое руководство к набору реагентов – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование состоит из следующих этапов:

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

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используют комплект реагентов «РИБО-преп». Порядок работы с комплектом реагентов «РИБО-преп» смотрите в инструкции к данному комплекту для экстракции.

Экстракция ДНК из каждого исследуемого образца проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО) IC.

Каждая индивидуальная постановка должна сопровождаться постановкой двух контролей: отрицательного контроля экстракции (ОК) и положительного контроля экстракции (ПК).

Объемы реагентов и образцов при экстракции с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп»:

Объем IC – **10 мкл** в каждую пробирку.

Объем исследуемого образца – **100 мкл**.

В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл С–**.

В пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **90 мкл С–** и **10 мкл С+ IT-MTC**.

Объем элюции – **50 мкл** (допускается при необходимости увеличение объема элюции до 100 мкл).

ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Выбор пробирок для проведения ИТ зависит от используемого амплификатора.

Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

А. Подготовка проб для ИТ

Общий объем реакционной смеси – 20 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления двух реакционных смесей. На одну реакцию требуется **5 мкл IT-mix-MTC** или **IT-mix-IC** и **5 мкл IT-mix-F**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п. 7) плюс запас на 2 реакции.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционных смесей следует смешивать непосредственно перед проведением исследования.

2. Разморозить и перемешать содержимое пробирок с **IT-mix-MTC** и **IT-mix-IC**, осадить капли на вортексе. Содержимое пробирки **IT-mix-F** перемешать пипетированием, осадить капли на вортексе.

ВНИМАНИЕ! Допускается хранение реагентов при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 недель. По истечении указанного срока реагенты не использовать.

3. В двух отдельных пробирках приготовить две реакционные смеси. В одной пробирке смешать необходимое количество **IT-mix-MTC** и **IT-mix-F**, в другой – **IT-mix-IC** и **IT-mix-F**. Тщательно перемешать, осадить капли на вортексе.

ВНИМАНИЕ! При работе с **IT-mix-MTC** и **IT-mix-IC** возможно выпадение осадка после размораживания, который полностью растворяется при нагревании до комнатной температуры. Перед приготовлением реакционной смеси необходимо убедиться в отсутствии осадка в пробирках с **IT-mix-MTC** и **IT-mix-IC**.

4. Отобрать необходимое (двукратное) количество пробирок или стрипов для ИТ исследуемых и контрольных проб, поставить в два ряда (или группы).
5. Внести в каждую пробирку первого ряда по **10 мкл** одной из

- приготовленных реакционных смесей, в каждую пробирку второго ряда по **10 мкл** другой реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционных смесей выбросить.
6. В две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.
 7. Поставить контрольные реакции:
 - а) **положительный контроль экстракции (ПК)** – в две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл** пробы, экстрагированной из **С+ IT-MTC**.
 - б) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в две пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл** пробы, экстрагированной из **С–**.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию в лаборатории необходима постановка отрицательного контроля ИТ (К–). Для этого в две пробирки с реакционными смесями внести по **10 мкл С–** (без этапа экстракции).

8. Перемешать содержимое пробирок, не допуская появления пены, осадить капли на вортексе.

ВНИМАНИЕ! Провести ИТ сразу после соединения реакционных смесей с ДНК-пробами и контролями.

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

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

ВНИМАНИЕ! При использовании прибора роторного типа первыми в ротор должны быть поставлены образцы с **IT-mix-MTC**. В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по углам реакционного модуля амплификатора.

2. Запустить программу амплификации:

- а) либо с использованием ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® MTC-IT Soft, согласно руководству оператора;

Примечание – Детектирующий амплификатор должен быть совместим с ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) версии 1.0.0 или выше.

- б) либо в ручном режиме, запрограммировав детектирующий амплификатор для выполнения программы, указанной в табл. 8, согласно инструкции по его применению.

Таблица 8

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Температура, °C	Время	Детекция по каналу для флуорофора	Количество циклов
65	30 с	FAM	50

Примечание – При одновременном проведении нескольких тестов допускается задать в программе наибольшее количество циклов амплификации из указанных в инструкциях к используемым наборам реагентов. Флуоресцентные сигналы, соответствующие увеличенному количеству циклов, не учитываются при анализе и интерпретации результатов (см. вкладыш к набору реагентов).

ВНИМАНИЕ! В процессе ИТ образуется больше продуктов амплификации, чем в ПЦР, поэтому требуется особая осторожность при утилизации продуктов ИТ.

В. Анализ и интерпретация результатов

ВНИМАНИЕ! Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Анализ полученных результатов проводят вручную с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ИТ с детекцией в режиме «реального времени», или в автоматическом режиме с помощью ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® MTC-IT Soft. Порядок работы с ПО AmpliSens® MTC-IT Soft описан в руководстве оператора.

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации в соответствии с табл. 9:

Таблица 9

Канал для флуорофора	FAM
Наименование ИТ-mix	Продукт амплификации
MTC	ДНК МТС
IC	ДНК ВКО

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции, имеющей экспоненциальный подъем, с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (C_t). При использовании ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® MTC-IT Soft значения C_t определяются автоматически.

Анализируют значения пороговых циклов (C_t) образцов относительно граничных значений, указанных во вкладыше к набору реагентов, в соответствии с табл. 10.

Таблица 10

Интерпретация результатов анализа исследуемых образцов

Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора FAM		Результат
IT-mix-MTC	IT-mix-IC	
отсутствует или больше граничного	<u>определено меньше граничного</u>	ДНК МТС НЕ обнаружена
<u>определено меньше граничного</u>	<u>определено меньше граничного</u>	ДНК МТС обнаружена
определено или отсутствует	отсутствует или больше граничного	Невалидный. Требуется повторить исследование

Контроль качества исследования

Результат исследования считается валидным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и ИТ в соответствии с табл. 11 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 11

Результаты для контролей исследования

Контроль	Контролируемый этап исследования	Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора FAM	
		IT-mix-MTC	IT-mix-IC
ПК	Экстракция ДНК	<u>Определено меньше граничного</u>	<u>Определено меньше граничного</u>
ОК	Экстракция ДНК	отсутствует или больше граничного	<u>Определено меньше граничного</u>
К–	ИТ	отсутствует или больше граничного	отсутствует

ВНИМАНИЕ! Настройки приборов и граничные значения указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля экстракции (ПК) значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора FAM с реакционными смесями IT-mix-MTC и IT-mix-IC отсутствует или превышает граничное. Необходимо повторить исследование, начиная с этапа экстракции ДНК, для всех образцов.
2. Для отрицательного контроля экстракции (ОК):
 - а) с реакционной смесью IT-mix-MTC по каналу для флуорофора FAM определено значение C_t меньше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов или исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма, начиная с этапа экстракции ДНК.
 - б) с реакционной смесью IT-mix-IC по каналу для флуорофора FAM значение C_t отсутствует или больше граничного. Это означает, что ОК не выполнил функцию контроля контаминации. Требуется повторное исследование образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма, начиная с этапа экстракции ДНК.
3. Для отрицательного контроля ИТ (К-) по каналу для флуорофора FAM с реакционной смесью IT-mix-IC определено значение C_t или с реакционной смесью IT-mix-MTC определено значение C_t меньше граничного. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма.
4. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции (в режиме просмотра необработанных («сырых») данных) отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график

представляет собой приблизительно прямую линию). При анализе результатов вручную необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии или при анализе результатов в автоматическом режиме, то требуется повторно провести амплификацию и детекцию для данного образца.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 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 в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение.

Форма IT-200. Хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. IT-mix-F хранить в защищенном от света месте.

Морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcg.ru. Отзывы и предложения о продукции AmpliSens® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Goodfellow M., Jones A.L. Order V. Corynebacteriales ord. nov. In: Goodfellow M., Kämpfer P., et al. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol. 5, 2nd edn., Springer, New York, 2012, p. 235.
2. Camus JC, Pryor MJ, Médigue C, Cole ST. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology (Reading)*. 2002 Oct;148(Pt 10):2967-2973. doi: 10.1099/00221287-148-10-2967. PMID: 12368430.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Содержимого достаточно для проведения <п> тестов



Код партии



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики in vitro



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



Дата изменения



Не допускать воздействия солнечного света



Температурный диапазон



Дата изготовления



Изготовитель

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 26
двадцать шесть лист 06

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)



«22» января 2024 г.
М.П.


А.О.Лисицына

«УТВЕРЖДАЮ»

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

В.Г. Акимкин

« 22 » декабря 2023 г.



РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

по применению программного обеспечения

AmpliSens® MTC-IT Soft

AmpliSens®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, улица Новогиреевская, дом 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП РАБОТЫ.....	4
УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ	4
Требования к техническим средствам оператора	4
Требования к входным данным.....	5
Требования к информационной безопасности	5
ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ.....	5
Загрузка ПО AmpliSens® МТС-IT Soft в ПО ARTS	5
Формирование и запуск постановки.....	6
Анализ и интерпретация результатов	6
Авторизация результатов ИТ-исследования.....	9
Формирование бланка с результатами.....	9
СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ	10
ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ.....	11

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	- внутренний контрольный образец
Детектирующий амплификатор	- прибор для проведения амплификации с детекцией в режиме «реального времени»
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
К-	- отрицательный контроль амплификации
МБТ (МТС)	- микобактерии туберкулеза (<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>)
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПК	- положительный контроль экстракции
ПО	- программное обеспечение, программа
ИТ	- изотермическая амплификация
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Наименование ПО: AmpliSens® MTC-IT Soft.

Версия ПО: 1 (номера минорных и незначимых изменений не указаны).

Способ размещения и доступа ПО: входит в состав набора реагентов AmpliSens® MTC-IT. ПО AmpliSens® MTC-IT Soft и руководство оператора предоставляются на электронном носителе или на официальном сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

Класс безопасности: Класс А в соответствии с п. 4.3 ГОСТ IEC 62304.

Порядок нумерации версий ПО: Обозначение версии состоит из трех чисел, разделенных точками, означающих нумерацию мажорных, минорных и незначимых изменений соответственно. Мажорные изменения означают изменение функционального назначения, принципа работы, структуры и функций составных частей ПО; минорные изменения означают изменения названий и обозначений в информационном блоке ПО; незначимые изменения означают изменения (включая исправление ошибок) и доработки, не изменяющие функции, описанные для мажорных и минорных изменений.

Примечание – При обозначении версии ПО в составе набора реагентов AmpliSens® MTC-IT номера минорных и незначимых изменений не указываются. Полная версия ПО, включая номера минорных и незначимых изменений, указана во вкладыше к набору реагентов и в интерфейсе ПО.

ПО соответствует требованиям ГОСТ IEC 62304.

НАЗНАЧЕНИЕ

Программное обеспечение AmpliSens® MTC-IT Soft предназначено для автоматического программирования детектирующего амплификатора и автоматической обработки и интерпретации результатов ИТ-исследования при

использовании набора реагентов AmpliSens® MTC-IT (далее – набор реагентов). ПО AmpliSens® MTC-IT Soft представляет собой программу, содержащую критерии анализа кривых флуоресценции и алгоритм интерпретации результатов, а также информацию об аналитах, используемом биологическом материале, реагентах и контрольных образцах, программе амплификации, указанных в инструкции к набору реагентов.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Для работы ПО AmpliSens® MTC-IT Soft необходимо ПО AmpliSens® RealTime Soft (далее – ПО ARTS).

В соответствии с информацией об используемом биологическом материале, реагентах, контрольных образцах и программе амплификации, указанной в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft, ПО ARTS осуществляет запуск детектирующих амплификаторов. После завершения амплификации ПО ARTS визуализирует полученные флуоресцентные кривые и осуществляет автоматический экспорт полученных данных для контрольных и исследуемых образцов в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft.

ПО AmpliSens® MTC-IT Soft проводит автоматическую интерпретацию результатов с использованием полученных значений пороговых циклов (C_t), включая оценку валидности контрольных образцов и ИТ-исследования в целом. Полученные в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft результаты автоматически передаются в ПО ARTS для их визуализации оператору.

Допускается программирование и запуск детектирующего амплификатора без использования ПО AmpliSens® MTC-IT Soft и ПО ARTS. В этом случае файл с данными, полученный на детектирующем амплификаторе, можно экспортировать в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft для дальнейшей автоматической интерпретации результатов.

Технологии искусственного интеллекта в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft не используются.

УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ

Требования к техническим средствам оператора

Персональный компьютер с предустановленным ПО ARTS. Системные требования к персональному компьютеру указаны в руководстве оператора ПО ARTS.

Для установки ПО ARTS необходимо обратиться в техническую поддержку для загрузки и запуска установочных файлов ПО ARTS.

Требования к входным данным

Обозначения ячеек исследуемых и контрольных образцов в интерфейсе ПО ARTS должны строго соответствовать их фактическому расположению в реакционном блоке детектирующего амплификатора.

Требования к информационной безопасности

Влияние угроз и уязвимостей ПО на пользователей или пациентов отсутствует.

ПО не содержит и не обрабатывает персональные данные пациентов.

Средства криптографической защиты в ПО не используются.

Доступ к ПО осуществляется с помощью авторизации пользователя в ПО ARTS (учетная запись). Уровень доступа пользователей должен быть обеспечен исходя из требуемой функциональности.

В рамках инфраструктуры информационных технологий, использующей ПО, необходимо:

- предпринять меры обеспечения информационной безопасности и кибербезопасности для непрерывного функционирования программного обеспечения и исключения возможности несанкционированного доступа к информации в программном обеспечении;
- обеспечить наличие регулярных архивных копий ПО с возможностью их восстановления;
- использовать средства защиты от вредоносных программ; .
- соблюдать требования к информационной безопасности, указанные в руководстве оператора ПО ARTS.

ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Загрузка ПО AmpliSens® MTC-IT Soft в ПО ARTS

Загрузка ПО AmpliSens® MTC-IT Soft в ПО ARTS при наличии подключения персонального компьютера к сети Интернет производится автоматически при запуске ПО ARTS.

При отсутствии подключения персонального компьютера к сети Интернет загрузка в ПО ARTS производится вручную с электронного носителя путем выбора файла с пакетом ПО, включающим ПО AmpliSens® MTC-IT Soft. Для этого в меню *Постановки* выбрать *Пакеты ПО – Загрузить пакет*.

После завершения загрузки установленное ПО отображается в списке *Пакеты ПО* и доступно для формирования и расчета постановок.

Версия ПО AmpliSens® MTC-IT Soft отображается в меню *Каталог методик* в столбце *Версия*, а также в меню *Постановки - Пакеты ПО*, после выбора пакета (версия ПО отображается с указанием номеров минорных и незначимых изменений).

Формирование и запуск постановки

Формирование постановки производится с использованием интерфейса ПО ARTS. В соответствии с руководством оператора к ПО ARTS необходимо выполнить следующие действия:

1. Открыть ПО ARTS.
2. Зарегистрировать серию набора реагентов и ввести переменную информацию (при наличии), используя информацию из вкладыша к данной серии набора реагентов.
3. При необходимости сформировать список образцов для исследования с применением набора реагентов (вручную или загрузить из лабораторных информационных систем).
4. Выбрать детектирующий амплификатор и необходимый реакционный блок.
5. Сформировать постановку. Для этого во вкладке, соответствующей выбранному прибору, выбрать *Постановка - Новая постановка*:
 - 5.1. Выбрать из списка доступных программных обеспечений ПО AmpliSens® MTC-IT Soft и серию набора реагентов.
 - 5.2. На схематическом изображении реакционного блока детектирующего амплификатора в используемых ячейках разместить образцы из списка, сформированного в п.3 (или ввести их обозначения вручную), и контрольные образцы.
 - 5.3. Сохранить постановку нажатием кнопки *Сохранить*.
6. Для автоматического запуска амплификации нажать кнопку *Старт*. Ход амплификации отобразится в виде кривых накопления флуоресценции.

Примечание – Допускается программирование и запуск детектирующего амплификатора вручную в соответствии с программой амплификации, указанной в инструкции к набору реагентов.

Анализ и интерпретация результатов

После завершения амплификации ПО ARTS автоматически визуализирует кривые флуоресценции.

Примечание – Если детектирующий амплификатор был запрограммирован и запущен вручную, необходимо сформировать постановку, как описано в разделе

«Формирование и запуск постановки», нажать кнопку **Выбрать файл** для указания пути к файлу с детектирующего амплификатора и нажать **Рассчитать**.

В соответствии с критериями анализа кривых флуоресценции, указанными в ПО AmpliSens® MTC-IT Soft, автоматически определяется статус каждой кривой по каждому каналу детекции: положительный, отрицательный или сомнительный.

Статус присваивается на основании критериев, оценивающих отклонения формы кривой накопления флуоресценции от нормальной (S-образной) формы кривой накопления флуоресценции, например:

- наличие неспецифических скачков флуоресцентного сигнала;
- низкое соотношение сигнал/шум;
- кинетика накопления флуоресцентного сигнала, отличная от S-образной.

Сомнительные кривые классифицируются на «Сомнительно +» и «Сомнительно -», что следует интерпретировать как:

«Сомнительно +» – наиболее вероятно, что для кривой получен положительный результат, требуется подтверждение.

«Сомнительно -» – наиболее вероятно, что для кривой получен отрицательный результат, требуется подтверждение.

Каждой сомнительной кривой необходимо присвоить статус: «Положительный», «Отрицательный» или сделать заключение о необходимости повторного исследования данного образца. Для этого:

1. Отобразить кривые по всем каналам детекции в режиме отображения «сырых» данных с прибора (режим «RAW»).

ВНИМАНИЕ! Не следует принимать решение о статусе сомнительной кривой на основании просмотра нормализованных кривых (режим «Norma»), т.к. в данном режиме отображаются флуоресцентные кривые после математической обработки.

2. Отфильтровать кривые со статусом «Сомнительный» по каждому каналу. В скобках рядом с названием канала указано количество сомнительных кривых.
3. В списке образцов последовательно присвоить кривым статус «Положительный», «Отрицательный» или сделать заключение о необходимости повторного исследования данного образца («Перестановка» – образцы будут возвращены в список образцов для возможности повторного исследования).

ВНИМАНИЕ! Присвоение статуса сомнительным кривым производится на основании экспертного мнения сотрудника лаборатории, осуществляющего анализ результатов. В случае если для сомнительной флуоресцентной кривой не удастся принять

однозначного решения по ее статусу, рекомендуется провести повторное исследование для данного образца.

После просмотра кривых флуоресценции и присвоения статуса всем сомнительным флуоресцентным кривым необходимо нажать кнопку **Результат** для интерпретации результатов.

Во вкладке **AmpliSens MTC-IT Soft** будут выведены результаты, автоматически полученные ПО AmpliSens® MTC-IT Soft на основании значений порогового цикла (C_t) для исследуемых образцов, включая оценку валидности контрольных образцов и ИТ-исследования в целом.

Результаты для контрольных образцов выводятся в виде таблицы с детализацией по каналу детекции. Если для одного или нескольких контрольных образцов получено сообщение об ошибке, данный результат дублируется в строке статуса постановки.

Результаты для исследуемых образцов выводятся в качественном формате в виде таблицы с учетом статуса контролей и указанием канала детекции.

Возможные варианты интерпретации результатов исследуемых образцов указаны в таблице 1.

Таблица 1

Качественное определение
Обнаружено
Не обнаружено
Невалидный

Возможные варианты результатов для контролей и интерпретации результатов для исследуемых образцов с учетом статуса контролей указаны в таблице 2.

Таблица 2

Статус контроля	Интерпретация результатов для исследуемых образцов с учетом статуса контроля
	Качественное определение
	В соответствии с таблицей 1
Ошибка ПК	Интерпретация невозможна для всех образцов
Ошибка ПК (по каналу ВКО)	Интерпретация невозможна для всех образцов
Контаминация К-	Интерпретация невозможна для образцов, в которых обнаружен определяемый аналит
Контаминация К- (по каналу ВКО)	Интерпретация невозможна для образцов, в которых обнаружен определяемый аналит
Контаминация ОКО	Интерпретация невозможна для образцов, в которых обнаружен определяемый аналит
Ошибка ОКО	Интерпретация невозможна для образцов, в которых обнаружен определяемый аналит

В случаях, перечисленных в таблице 2, для соответствующих исследуемых образцов в таблице результатов выводится сообщение «Интерпретация невозможна»

с указанием причины (например, «Интерпретация невозможна (Ошибка ПК)»).

Авторизация результатов ИТ-исследования

После вывода результатов для исследуемых образцов во вкладке **AmpliSens MTC-IT Soft** необходимо авторизовать (подтвердить) или отвергнуть (отклонить) результаты автоматической интерпретации. Возможны следующие действия в соответствии с руководством оператора к ПО ARTS:

1. Отправка образца на повторное ИТ-исследование.
2. Отмена результата ИТ-исследования всех образцов в постановке.
3. Авторизация результата ИТ-исследования каждого образца.
4. Авторизация результата ИТ-исследования всех образцов в постановке.
5. Выгрузка результатов ИТ-исследования в виде файла в формате CSV (в формате электронной таблицы).
6. Выгрузка постановки в отдельный файл для просмотра в ПО ARTS.
7. Закрытие вкладки с результатами ИТ-исследования. Вкладка **AmpliSens MTC-IT Soft** будет закрыта, результаты ИТ-исследования будут сохранены. Для возвращения к результатам ИТ-исследования необходимо во вкладке **Список постановок** выбрать из списка необходимую постановку и открыть ее двойным щелчком левой кнопки мыши.

Формирование бланка с результатами

ВНИМАНИЕ! Только авторизованные результаты ИТ-исследования, полученные с помощью ПО AmpliSens® MTC-IT Soft, передаются в ПО ARTS для формирования бланков с результатами для исследуемых образцов и/или передачи в лабораторную информационную систему.

Формирование бланков с результатами производится оператором в ПО ARTS. Поиск, просмотр и печать бланков осуществляется через интерфейс ПО ARTS в соответствии с руководством оператора ПО ARTS.

ВНИМАНИЕ! Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ

Сообщение	Причина сообщения	Дальнейшие действия оператора
Для AmpliSens® MTC-IT Soft не размещен контроль ПК	В реакционном блоке не размещен ПК	Указать положение ПК в реакционном блоке, используя кнопку ПК
Для AmpliSens® MTC-IT Soft не размещен контроль ОК	В реакционном блоке не размещен ОК	Указать положение ОК в реакционном блоке, используя кнопку ОК
Для AmpliSens® MTC-IT Soft не размещен контроль К–	В реакционном блоке не размещен К–	Указать положение К– в реакционном блоке, используя кнопку К–
Ошибка ПК	Значение C_t для ПК не определено или больше граничного по каналу для флуорофора FAM для IT-mix-MTC	Необходимо повторить исследование, начиная с этапа экстракции ДНК, для всех образцов. Предварительно рекомендуется просмотреть положительные кривые флуоресценции исследуемых образцов в режиме отображения «сырых» данных с прибора (режим «RAW») на наличие участка характерного экспоненциального подъема. Если для исследуемого образца определено значение C_t , при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема, требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца
Ошибка ПК (по каналу ВКО)	Значение C_t для ПК не определено или больше граничного по каналу для флуорофора FAM для IT-mix-IC	Необходимо повторить исследование, начиная с этапа экстракции ДНК, для всех образцов.
Контаминация ОКО	Определено значение C_t для образца ОК меньше граничного по каналу для флуорофора FAM для IT-mix-MTC	Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов или исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма, начиная с этапа экстракции ДНК
Ошибка ОКО	Значение C_t для ОК отсутствует или превышает граничное по каналу для флуорофора FAM для IT-mix-IC	Это означает, что ОК не выполнил функцию контроля контаминации. Требуется повторное ИТ-исследование образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма, начиная с этапа экстракции ДНК

Сообщение	Причина сообщения	Дальнейшие действия оператора
Контаминация К–	Определено значение C_t для образца К- меньше граничного по каналу для флуорофора FAM для IT-mix-MTC	Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма
Контаминация К– (по каналу ВКО)	Определено значение C_t для образца К- для флуорофора FAM для IT-mix-IC	Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для образцов, в которых обнаружена ДНК анализируемого микроорганизма

ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ

При выявлении сбоев в работе ПО AmpliSens® MTC-IT Soft рекомендуется обращаться в техническую поддержку. При обращении в техническую поддержку необходимо предоставить следующую информацию:

- Номер версии ПО AmpliSens® MTC-IT Soft и ПО ARTS.
- Описание ошибки (текст или изображение).
- Описание действия / последовательности действий, при которых возникла ошибка.
- Контакты для обратной связи.

Сотрудники технической поддержки могут запросить дополнительную информацию для решения вопроса.

Телефон: +7 (495) 304 22 06 в рабочие часы организации.

Почта: lab@amplisens.ru в режиме 24x7.

Разработчик ПО: Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

Руководство оператора и интерфейс программного обеспечения разработаны на русском языке и могут быть переведены на другие языки без внесения изменений в программный код ПО.

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 11
одинадцать лист об

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

«11» января 2024 г. А.О.Лисицына

