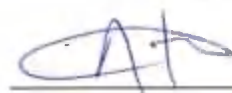


УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ГОРДИЗ»

Леонов С.Н.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для обнаружения возбудителей
респираторных заболеваний человека методом анализа нуклеиновых
кислот с детекцией результата методом капиллярного электрофореза
(IVD-TEST RScan) по ТУ 21.20.23-004-85818162-2020

IVD_TEST



ООО «ГОРДИЗ»,
Российская Федерация, 117246,
Город Москва, Научный проезд, дом 20, строение 3

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

I	
1. НАЗНАЧЕНИЕ	3
2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	4
3. ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА	4
4. ПРИНЦИП МЕТОДА	4
4.1. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА	7
5. ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ И СОСТАВ НАБОРА	7
6. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	8
7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	8
8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	10
8.1. Требования безопасности при работе с набором	10
8.2. Требования охраны окружающей среды	11
9. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	11
10. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА	12
10.1. Материал для исследования	12
10.2. Предварительная обработка клинического материала	12
10.3. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой	13
11. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	13
11.1. Постановка реакции амплификации исследуемых локусов нуклеиновых кислот	14
11.2. Проведение амплификации исследуемых локусов нуклеиновых кислот	14
11.3. Проведение капиллярного электрофореза	14
12. АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	19
12.1. Детекция результатов	19
12.2. Интерпретация результатов	19
13. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	22
13.1. Условия хранения	22
13.2. Транспортирование	22
14. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ	22
15. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23
16. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ	23
17. ПЕРЕЧЕНЬ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ	24

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
мкл	- микролитр
мл	- миллилитр
п.п.	- пары нуклеотидов

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов IVD-TEST RScan предназначен для одновременного качественного обнаружения и идентификации нуклеиновых кислот возбудителей респираторных заболеваний человека (*Influenza virus*, *Parainfluenza virus*, *Coronavirus*, *Human Adenovirus*, *Rhinovirus*, *Human Bocavirus*, *Human Metapneumovirus*, *Respiratory Syncytial Virus*, *Chlamydomphila pneumonia*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*) методом ПЦР и детекцией результата методом капиллярного электрофореза в образцах биологического материала человека (мазки из носоглотки).

Набор предназначен для использования совместно с медицинским изделием «Анализатор Генетический Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007).

Функциональное назначение.

Функциональное назначение – Набор реагентов IVD-TEST RScan предназначен для дифференциальной диагностики респираторных заболеваний человека, вызываемых следующими возбудителями:

- Вирусы гриппа (*Influenza A*: *Influenza A H1N1/pdm09*, *Influenza A H1N1*, *Influenza A H3N2*; *Influenza B*), Вирусы парагриппа (*Parainfluenza virus 1*, *Parainfluenza virus 2*, *Parainfluenza virus 3*, *Parainfluenza virus 4*), Коронавирусы (*SARS-CoV-2*, *Coronavirus NL63*, *Coronavirus 229E*, *Coronavirus HKU1*, *Coronavirus OC43*), Аденовирусы группы В (*Human Adenovirus B*), Риновирус (*Rhinovirus*), Бокавирус (*Human Bocavirus*), Метапневмовирус (*Human Metapneumovirus*), Респираторно-синцитиальный вирус (*Respiratory Syncytial Virus A*, *Respiratory Syncytial Virus B*),
- Хламидия (*Chlamydomphila pneumonia*), Легионелла (*Legionella pneumophila*), Микоплазма (*Mycoplasma pneumonia*), Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), Гемофильная палочка (*Haemophilus influenzae type B*), Коклюшная палочка (*Bordetella pertussis*), Паракоклюшная палочка (*Bordetella parapertussis*).

Нуклеиновые кислоты вирусных и бактериальных организмов, идентифицированных с помощью данного теста, обычно обнаруживаются в мазках из носоглотки во время острой фазы инфекции. Положительные результаты свидетельствуют о наличии идентифицированного микроорганизма, но не исключают сопутствующей инфекции другими возбудителями, не выявленными тестом, или инфекции нижних дыхательных путей, не обнаруживаемой при мазке из носоглотки.

Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Полученные результаты не являются основанием для постановки диагноза, а используются только в сочетании с другими лабораторными показателями и диагностической информацией.

Острые респираторные инфекции — группа инфекционных заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, которые передаются воздушно-капельным путем и характеризуются симптомами инфекционного токсикоза.

Наиболее распространенными патогенными микроорганизмами, вызывающими респираторные заболевания человека, являются вирусы парагриппа (Parainfluenza virus 1,2,3,4), коронавирусы (SARS-CoV-2, 229E, NL63, OC43, HKU1), вирусы гриппа А (Influenza A H1N1, Influenza A H1N1/pdm09, Influenza A H3N2), вирусы гриппа В (Influenza B), риновирус (Rhinovirus), метапневмовирус (Human Metapneumovirus), аденовирус (Human Adenovirus), респираторно-синцитиальный вирус (Respiratory Syncytial Virus).

Учитывая вероятность инфицирования пациента несколькими инфекционными агентами, с целью повышения эффективности диагностики заболевания целесообразно применение комплексного подхода к выявлению этиологических агентов инфекционного процесса с использованием метода мультиплексной ПЦР, что позволит повысить информативность и скорость проведения исследования.

Метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией позволяет диагностировать наиболее частые заболевания, вызываемые как бактериальными, так и вирусными возбудителями респираторных заболеваний человека. В основе данного метода лежит мультиплексная ПЦР с использованием флуоресцентно-меченых праймеров, ограничивающих консервативные участки геномов исследуемых микроорганизмов. Набор IVD-TEST RScan позволяет провести амплификацию одновременно 27 участков геномов исследуемых микроорганизмов в формате одной мультиплексной реакции.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Клиническая лабораторная диагностика.

Показания к применению: набор реагентов IVD-TEST RScan может быть использован в клинической лабораторной диагностике для обнаружения возбудителей респираторных заболеваний человека (Influenza virus, Parainfluenza virus, Coronavirus, Human Adenovirus, Rhinovirus, Human Bocavirus, Human Metapneumovirus, Respiratory Syncytial Virus, *Chlamydomonas pneumonia*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*).

3. ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА

Набор реагентов IVD-TEST RScan предназначен только для диагностики *in vitro*, для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* в результате специального образования и обучения.

Исследования могут выполнять сотрудники клинико-диагностических лабораторий не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку в области молекулярно-биологических методов и методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) II-IV группы патогенности.

4. ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение наличия генетического материала патогенных микроорганизмов в биологическом материале человека (мазки и смывы из полости носа и носоглотки) с помощью набора реагентов IVD-TEST RScan проводится методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией с последующим анализом амплифицированных молекул ДНК методом капиллярного электрофореза.

На первом этапе исследуемый биоматериал подвергается процедуре экстракции нуклеиновых кислот. Полученный препарат, содержащий смесь нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) человека и присутствующих в мазке микроорганизмов, используется для проведения реакции обратной транскрипции (для молекул РНК) и последующей полимеразной цепной реакции (для молекул ДНК, и молекул кДНК полученных в процессе обратной транскрипции РНК). Олигонуклеотидные праймеры, используемые в наборе IVD-TEST RScan содержат флуоресцентную метку, благодаря которой обеспечивается возможность анализа амплифицированных ПЦР-продукты методом капиллярного электрофореза с флуоресцентной детекцией. Разделение ПЦР-продуктов и детекция флуоресцентного сигнала проводится в автоматическом режиме с использованием Анализатора генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (РУ № ФСЗ 2010/07007). Анализ полученных данных проводится в соответствии с Руководством для экспериментов по фрагментному анализу GeneMapper (на бумажном носителе или компакт-диске) для Анализатора генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007).

Идентификация исследуемых маркеров проводится по распределению длин амплифицированных фрагментов и использованному флуоресцентному красителю.

Исследуемые маркеры представляют собой фрагменты высококонсервативных локусов геномов микроорганизмов, вызывающих респираторные инфекции. Размеры амплифицируемых фрагментов отличаются в зависимости от природы возбудителей: определённый размер соответствует конкретному микроорганизму (Таблица 1).

Определение длины амплифицированного фрагмента происходит при сравнении относительной подвижности исследуемого фрагмента в полидиметилакриламидном геле с подвижностью фрагментов размерного стандарта известной длины. Размерный стандарт S550, входящий в состав набора IVD-TEST RScan, представляет собой набор охарактеризованных синтетических олигонуклеотидов заведомо известной длины.

Ниже приводится пример электрофореграммы с сигналами фрагментов стандарта S550 в канале детекции Orange. Обозначения 26 фрагментов ДНК приводятся в соответствии с их размером в нуклеотидных основаниях: 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 230, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 420, 440, 450, 500, 550.

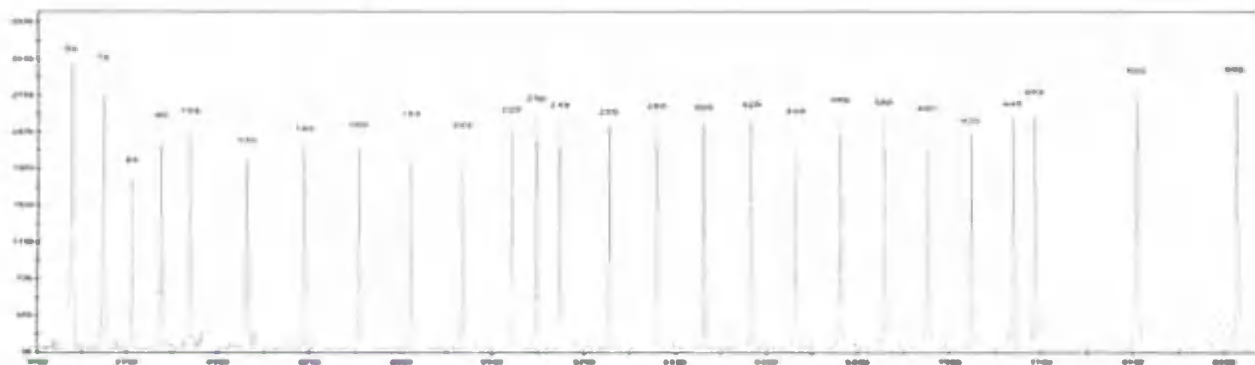


Рисунок 1. Электрофореграмма размерного стандарта S550.

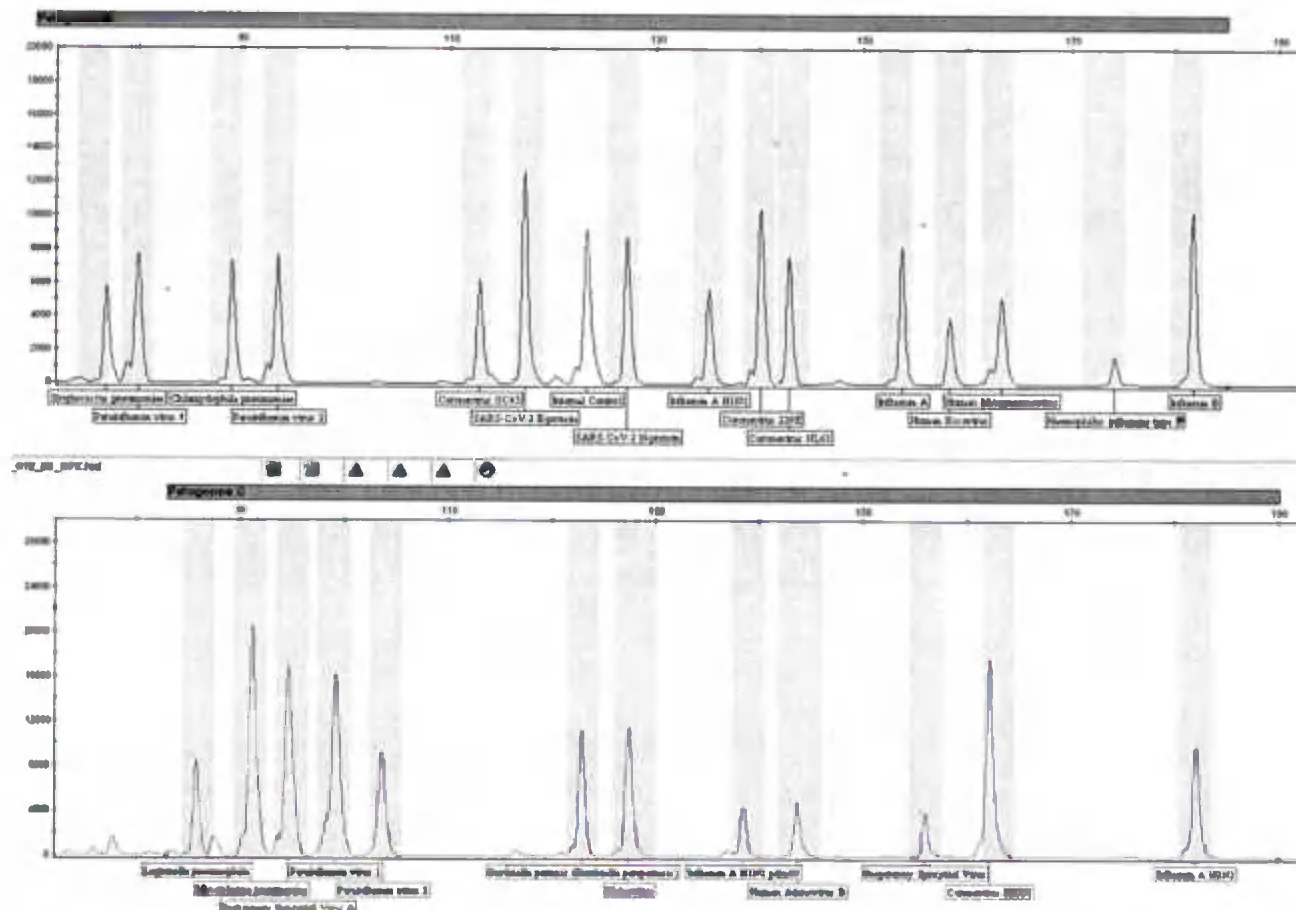


Рисунок 2. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных при исследовании образца Положительный контроль.

Таблица 1
Характеристики анализируемых мишеней возбудителей респираторных заболеваний человека.

Анализируемая мишень	Диапазон длины амплифицированного фрагмента, п.н.	Канал детекции
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	74 – 77	Blue
Parainfluenza virus 4	78 – 82	Blue
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	87 – 90	Blue
Parainfluenza virus 2	92 – 95	Blue
Coronavirus OC43	111 – 114	Blue
SARS-CoV-2 E-protein	116 – 119	Blue
Внутренний контроль	120 – 124	Blue
SARS-CoV-2 N-protein	125 – 129	Blue
Influenza A H1N1	133 – 137	Blue
Coronavirus 229E	138 – 142	Blue
Coronavirus NL63	141 – 145	Blue
Influenza A	151 – 155	Blue
Human Bocavirus	156 – 160	Blue
Human Metapneumovirus	161 – 165	Blue
<i>Haemophilus influenzae</i> type B	171 – 175	Blue
Influenza B	179 – 183	Blue
<i>Legionella pneumophila</i>	84 – 88	Green
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	89 – 93	Green
Respiratory Syncytial Virus A	93 – 96	Green
Parainfluenza virus 1	97 – 101	Green
Parainfluenza virus 3	102 – 106	Green
<i>Bordetella pertussis/parapertussis</i>	121 – 125	Green
Rhinovirus	126 – 129	Green
Influenza A H1N1/pdm09	137 – 140	Green

Human Adenovirus B	141 - 145	Green
Respiratory Syncytial Virus A/B	154 - 158	Green
Coronavirus HKU1	161 - 165	Green
Influenza A H3N2	180 - 184	Green

4.1. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

При наличии мутаций в анализируемой области генома, вследствие ухудшения гибридизации праймеров с исследуемыми мишенями ДНК, РНК и кДНК, могут наблюдаться ложноотрицательные реакции. В отношении условно-патогенной флоры (*Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*) необходимо учитывать возможность перекрестных реакций с фрагментами геномов непатогенных штаммов данных микроорганизмов, в связи с высокой степенью их генетического разнообразия.

5. ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ И СОСТАВ НАБОРА

Набор реагентов выпускается в 1 варианте исполнения.

Набор рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контрольные образцы

В состав набора входят следующие комплекты:

- 1) «Комплект для амплификации», включающий:
 - Реакционная смесь – 1 пробирка (500 мкл);
 - Раствор активатора – 1 пробирка (500 мкл);
 - Ревертаза – 1 пробирка (100 мкл);
 - ОТ-контроль – 1 пробирка (100 мкл);
 - Денонизованная вода – 1 пробирка (1700 мкл).
- 2) «Комплект контрольных образцов», включающий:
 - Положительный контроль – 1 пробирка (150 мкл);
 - Отрицательный контроль – 1 пробирка (1700 мкл).
- 3) «Комплект для электрофореза», включающий:
 - Размерный стандарт S550 – 1 пробирка (120 мкл).

В состав комплектаций набора входят готовые к применению реагенты. Реакционная смесь, Раствор активатора, Ревертаза содержат все необходимые компоненты для проведения этапов ОТ-ПЦР и ПЦР:

- раствор дПТФ;
- раствор специфичных флуоресцентно меченых праймеров;
- ПЦР-буфер;
- Taq-полимеразу;
- Ревертазу;

ОТ-контроль представляет собой раствор РНК-содержащего бактериофага MS2 в денонизованной воде. Служит контролем обратной транскрипции.

Контрольный образец «Положительный контроль» представляет собой раствор, содержащий синтетические мишени исследуемых в наборе ДНК-копий целевых фрагментов геномов респираторных патогенов. Контрольный образец «Отрицательный контроль» представляет собой денонизованную воду, не содержащую геномы микроорганизмов.

Размерный стандарт S550 представляет собой смесь охарактеризованных по молекулярной массе флуоресцентно меченых фрагментов ДНК, используемых в качестве стандарта для определения размера амплифицированных ПЦР-продуктов при проведении фрагментного анализа методом капиллярного электрофореза.

6. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

6.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Аналитическая чувствительность набора IVD-TEST RScan / Предел обнаружения возбудителей респираторных заболеваний человека, составляет не менее 10^4 геном-эквивалентов/мл для каждого из возбудителей при выделении препарата нуклеиновых кислот Комплектом реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021)

6.2. Аналитическая специфичность

Специфичность определяется олигонуклеотидными затравками (праймерами), подобранными к гомологичным участкам видоспецифичных генов возбудителей, что исключает перекрестные реакции с близкородственными микроорганизмами и другими инфекционными возбудителями.

Аналитическая специфичность набора реагентов в отношении исследуемых молекулярных мишеней, т.е. способность выявлять в исследуемом образце только нуклеиновые кислоты указанных в назначении микроорганизмов, а также отсутствие неспецифических реакций с РНК и ДНК других микроорганизмов и человека, доказана производителем при исследовании РНК или ДНК следующих микроорганизмов:

- Вирусы гриппа (Influenza A: Influenza A H1N1/pdm09, Influenza A H1N1, Influenza A H3N2; Influenza B), Вирусы парагриппа (Parainfluenza virus 1, Parainfluenza virus 2, Parainfluenza virus 3, Parainfluenza virus 4), Коронавирусы (SARS-CoV-2, Coronavirus NL63, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus OC43), Аденовирусы группы В (Human Adenovirus B), Риновирус (Rhinovirus), Бокавирус (Human Bocavirus), Метапневмовирус (Human Metapneumovirus), Респираторно-синцитиальный вирус (Respiratory Syncytial Virus A, Respiratory Syncytial Virus B), Хламидия (*Chlamydomonas pneumonia*), Леггионелла (*Legionella pneumophila*), Микоплазма (*Mycoplasma pneumonia*), Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), Гемофильная палочка (*Haemophilus influenzae type B*), Коклюшная палочка (*Bordetella pertussis*), Паракоклюшная палочка (*Bordetella parapertussis*), а также геномной ДНК человека. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты выявлены не были.

Специфичность, рассчитанная как % истинно отрицательных результатов для отрицательных проб на целевой маркер, составила 100%.

6.3. Повторяемость

Внутрисерийная и межсерийная повторяемость результатов исследования с использованием набора IVD-TEST RScan для всех исследуемых мишеней составляет 100%.

7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Валидация реагентов, входящих в состав набора, проведена в рамках клинических испытаний на 200 препаратах нуклеиновых кислот микроорганизмов, полученных из биологического материала человека (мазки и смывы из полости носа и носоглотки). В качестве метода сравнения для всех образцов проведено предварительное исследование методом ПЦР в реальном времени с использованием зарегистрированных в установленном порядке наборов реагентов.

Диагностическая чувствительность обнаружения возбудителей респираторных заболеваний человека с использованием набора IVD-TEST RScan составляет 100% (95% ДИ: 88-100%), с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая специфичность обнаружения возбудителей респираторных заболеваний человека с использованием набора IVD-TEST RScan составляет 100% (95% ДИ: 88-100%) с доверительной вероятностью 95 %).

Воспроизводимость результатов исследования с использованием набора IVD-TEST RScan составляет 100% и подтверждена в ходе проведения клинических испытаний на разных сериях набора (внутрисерийная, межсерийная и внутрисерийная воспроизводимость).

Правильность результатов исследования с использованием набора IVD-TEST RScan подтверждена с использованием методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов реагентов:

- 1) Набор реагентов для выявления ДНК *Legionella pneumophila* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Legionella pneumophila*-FL» по ТУ 9398-060-01897593-2009 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/07097 от 27.12.2019 г.);
- 2) Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Mycoplasma pneumoniae*/*Chlamydia pneumoniae*-FL» по ТУ 9398-176-01897593-2012 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13957 от 27.02.2019 г.);
- 3) Набор реагентов для количественного определения ДНК *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* методом ПЦР АмплиСенс® Пневмо-квант-FL по ТУ 21.20.23-281-01897593-2017 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № РЗН 2022/16467 от 01.02.2022 г.);
- 4) Набор реагентов для выявления возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека (ОРВИ): РНК респираторносинцитиального вируса (human Respiratory Syncytial virus - hRSV), метапневмовируса (human Metapneumovirus-hMPV), вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (human Parainfluenza virus - 1-4 - hPIV), коронавирусов (human Coronavirus - hCoV), риновирусов (human Rhinovirus - hRV), ДНК аденовирусов групп В, С и Е (human Human Adenovirus B,C,E - hAdv) и бокавируса (human Bocavirus - hBoV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» по ТУ 9398-155-01897593-2010 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11258 от 26.02.2019 г.);
- 5) Набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК возбудителей коклюша (*Bordetella pertussis*), паракоклюша (*Bordetella parapertussis*) и бронхисептикоза (*Bordetella bronchiseptica*) в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Bordetella multi*-FL» по ТУ 9398-193-01897593-2012 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13304 от 26.02.2019 г.);
- 6) Набор реагентов АмплиСенс® SARS-CoV-2-IT по ТУ 21.20.23-412-01897593-2020 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № РЗН 2021/14599 от 23.01.2023 г.);
- 7) Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А (*Influenza virus A*) и гриппа В (*Influenza virus B*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Influenza virus A/B*-FL» по ТУ 9398-080-01897593-2012 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/05010 от 21.02.2019 г.);
- 8) Набор реагентов для типирования (идентификации субтипов H1N1 и H3N2) вирусов гриппа А (*Influenza virus A*) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс® *Influenza virus A*-тип-FL" по ТУ 9398-102-01897593-2010 в двух вариантах (FER и FRT) (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/08367 от 27.02.2019 г.)

Показатели диагностических характеристик для исследуемых мишеней геномов возбудителей респираторных заболеваний соответствуют значениям, приведенным в таблице 2.

Таблица 2.

Выявленный тип микроорганизма	Количество положительных образцов	Количество отрицательных образцов	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	94	169	100% (95% ДИ:96-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Parainfluenza virus ¹	25	327	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Parainfluenza virus 1	3	349	100% (95% ДИ:36-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Parainfluenza virus 2	1	351	100% (95% ДИ:5-100%)*	100% (95% ДИ:99-100%)
Parainfluenza virus 3	16	336	100% (95% ДИ:82-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Parainfluenza virus 4	5	347	100% (95% ДИ:54-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	25	327	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Coronavirus ²	26	236	100% (95% ДИ:89-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Coronavirus OC43	12	340	100% (95% ДИ:77-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Coronavirus 229E	3	349	100% (95% ДИ:36-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Coronavirus NL63	3	349	100% (95% ДИ:36-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Coronavirus HKU1	7	345	100% (95% ДИ:63-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
SARS-CoV-2	25	238	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Influenza A	25	238	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Influenza A H1N1	23	329	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
Influenza A H1N1/pdm09	1	351	100% (95% ДИ:5-100%)*	100% (95% ДИ:99-100%)
Influenza A H3N2	1	351	100% (95% ДИ:5-100%)*	100% (95% ДИ:99-100%)
Human Bocavirus	26	237	100% (95% ДИ:89-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Human Metapneumovirus	25	327	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
<i>Haemophilus influenzae</i> type B	49	214	100% (95% ДИ:94-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Influenza B	28	235	100% (95% ДИ:89-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
<i>Legionella pneumophila</i>	25	327	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:88-100%)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	25	327	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:99-100%)
<i>Bordetella pertussis/parapertussis</i>	29	234	100% (95% ДИ:90-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
human Rhinovirus	41	222	100% (95% ДИ:92-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Human Adenovirus	25	238	100% (95% ДИ:88-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
human Respiratory Syncytial Virus A	29	234	100% (95% ДИ:90-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)
Respiratory Syncytial Virus A/B	30	233	100% (95% ДИ:90-100%)	100% (95% ДИ:98-100%)

*результат статистической обработки получен на единичном образце;

¹ – В таблице представлены объединённые результаты для следующих подтипов: Parainfluenza virus 1, Parainfluenza virus 2, Parainfluenza virus 3, Parainfluenza virus 4;

² – В таблице представлены объединённые результаты для следующих подтипов: Coronavirus NL63, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus OC43

³ – В таблице представлены объединённые результаты для следующих подтипов: Influenza A H1N1/pdm09, Influenza A H1N1, Influenza A H3N2.

8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3.

8.1. Требования безопасности при работе с набором

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил 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 населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV группы патогенности».

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
- Удалять неиспользованные реактивы 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 населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

ВНИМАНИЕ! При удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами II-IV группы патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.
- Не использовать набор по истечении срока годности.

8.2. Требования охраны окружающей среды

Набор реагентов не содержит веществ и материалов, требующих обеспечения специальных мер безопасности, и не представляет опасности для людей в течение всего срока годности. В том числе в случае отклонений в функционировании медицинского изделия, включая определяемые по внешним признакам.

Набор реагентов не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.

Набор реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав набора не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

Все компоненты набора нетоксичны для человека в используемых концентрациях. Реагенты, входящие в состав набора, безопасны для окружающей среды, не содержат цианид и азид натрия, а также другие вредные вещества.

Набор реагентов не содержит лекарственных средств для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения, материалов, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

9. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Бокс абактериальной воздушной среды для работы с ДНК-пробами при проведении ПЦР-диагностики БАВ-ПЦР-"Ламинар-С." по ТУ 9443-004-51495026-2004 (ЗАО «Ламинарные системы», Россия, ФСР 2010/07114).
2. Центрифуга "Фуга/вортекс Микро-Спин FV-2400" (Biosan, Латвия, ФС № 2005/518).

3. Дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011/11028).
4. Наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем ("Эквиджен, Инк.", США, ФСЗ 2012/12077).
5. Одноразовые полипропиленовые тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой крышкой. Например, Изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований in vitro ("Эквиджен, Инк.", США, ФСЗ 2012/11892).
6. Термостат электрический для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК Veriti Thermal Cycler, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011/09244).
7. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
8. Анализатор генетический Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007):
 - Полимер POP-4 3,5 мл на 384 прогона (2 упаковки);
 - Hi-Di Formamide 5 мл (2 упаковки);
 - Пластины реакционные оптические 96-луночные MicroAmp для ПЦР со штрих-кодом (1 упаковка);
 - Картридж с капиллярами 8х36см или 24х36см (1 упаковка)
 - Контейнер с анодным буфером (1 упаковка)
 - Контейнер с катодным буфером (1 упаковка)
9. Холодильник, поддерживающий температуру +4°C, например, XM-4424-000-N «ATLANT» (ЗАО «АТЛАНТ», Россия).
10. Холодильник, поддерживающий температуру -20°C, например Liebherr LGT 3725 (Liebherr, Австрия).

10. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

10.1. Материал для исследования

Материалом для исследования набором реагентов IVD-TEST RScan являются мазки из носоглотки человека.

Взятие, доставка и хранение клинических образцов

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV группы патогенности» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным врачом Российской Федерации 21.01.2020.

Мазки берут сухим стерильным зондом, вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки глотки. Зонд погружают в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл, в которую предварительно внесено 300 мкл физиологического раствора стерильного, вращают зонд в течение 10-15 с, избегая разбрызгивания раствора. Вынимают зонд из раствора, прижимая его к стенке пробирки и, отжав избыток жидкости, удаляют зонд и закрывают пробирку.

Материал должен быть доставлен в лабораторию как можно скорее, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике, при +2...+8°C. Допускается хранение образцов при +2...+8°C не более 2-х суток. Для более длительного хранения образцы должны храниться при температуре -15...-25°C.

10.2. Предварительная обработка клинического материала

Обработка клинического материала для выделения нуклеиновой кислоты, а также его хранение производится согласно инструкции производителя набора для выделения нуклеиновой

кислоты из мазков и смывов из полости носа и носоглотки человека. Для подготовки препаратов нуклеиновых кислот необходимо предварительно добавить 1 мкл ОТ-контроля из набора реагентов IVD-TEST RScan в 100 мкл раствора с клиническим материалом. Для проведения лизиса могут быть использованы любые зарегистрированные на территории РФ наборы реагентов для пробоподготовки, предназначенные для выделения нуклеиновых кислот из клинического материала для ПЦР-диагностики и позволяющие удалить ингибиторы ПЦР из образца. Предпочтение следует отдавать наборам реагентов для пробоподготовки, позволяющим максимально удалить ингибиторы ПЦР из образца, например, зарегистрированный в установленном порядке Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ФБУИ ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021).

10.3. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой

При использовании специализированных наборов реагентов для экстракции нуклеиновых кислот из мазков из носоглотки человека, например, Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ФБУИ ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021), предусмотрена стадия очистки препарата от посторонних примесей. Использование рекомендованных наборов для экстракции ДНК, например, Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ФБУИ ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021), позволяет исключить содержание в исследуемых препаратах нуклеиновых кислот потенциально интерферирующих веществ в концентрациях, способных оказать влияние на проведение полимеразной цепной реакции. Производителем Набора реагентов IVD-TEST RScan было показано сохранение эффективности работы набора при выделении нуклеиновых кислот из мазков из носоглотки человека в случае присутствия в клинических образцах потенциально интерферирующих веществ в концентрациях, соответствующих верхней границе физиологической нормы, и превышающих их в несколько раз.

Образец	Интерферент	Допустимое содержание в образце
мазки из носоглотки	кровь	10%
	слизь	60%
	хлоргексидин биглюконат	2%
	никотин	6 мкМ

11. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование препаратов нуклеиновых кислот, полученных из клинического материала с использованием набора реагентов IVD-TEST RScan включает следующие этапы:

- Проведение амплификации исследуемых локусов нуклеиновых кислот.
- Проведение фрагментного анализа полученных ПЦР продуктов методом капиллярного электрофореза.
- Анализ и интерпретация результатов.

11.1. Постановка реакции амплификации исследуемых локусов нуклеиновых кислот

Для проведения этапа амплификации используются препараты нуклеиновых кислот в деионизованной воде, экстрагированные из 100 мкл раствора с клиническим материалом согласно рекомендациям, приведенным в настоящей Инструкции по применению.

Для внесения в пробирки реагентов, образцов нуклеиновых кислот и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами. Общий объем реакционной смеси – 26 мкл, включая объем пробы нуклеиновой кислоты – 15 мкл.

1) Приготовить реакционную смесь в отдельной пробирке на 1,5 мл для необходимого количества исследований из расчета 5 мкл Реакционной смеси, 5 мкл Раствора активатора и 1 мкл Реввертазы на одну пробу. Смесь необходимо приготовить на необходимое количество образцов с учетом обязательного исследования Положительного Контроля и Отрицательного Контроля (Количество исследуемых образцов + 2). После приготовления реакционной смеси тщательно перемешать ее на вортексе и осадить капли с крышки пробирки.

2) Внести в каждую пробирку по 11 мкл готовой реакционной смеси.

3) В пробирки с реакционной смесью, используя наконечники с фильтром, внести 15 мкл исследуемого препарата нуклеиновой кислоты и довести Деионизованной водой до общего объема 26 мкл. При постановке реакции с контрольными образцами (Положительный контроль и Отрицательный контроль) внести в пробирки с реакционной смесью 15 мкл исследуемого Контрольного образца.

4) Осторожно перемешать пипетированием.

11.2. Проведение амплификации исследуемых локусов нуклеиновых кислот

1. Запрограммировать амплификатор для выполнения соответствующей программы амплификации (см. табл. 3).

Важно соблюдение скорости нагрева 0,3°C/сек. на этапе повышения с температуры с 60°C до 72°C и с 62°C до 72°C. В связи с высокой сложностью амплификации с участием большого количества пар праймеров данная скорость нагрева критична для оптимальной эффективности реакции.

Таблица 3. Программа амплификации IVD-TEST RScan

Шаг программы	Температура, °C	Время инкубации	Количество циклов
1	50	30 мин	1
	95	3 мин	
2	96	5 сек	30
	60	30 сек	
	72	30 сек	
3	96	5 сек	5
	62	30 сек	
	72	30 сек	
4	72	15 мин	1
	20	10 сек	

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

3. Запустить выполнение программы амплификации.

4. По окончании выполнения программы приступить к этапу проведения капиллярного электрофореза полученных ПЦР продуктов.

11.3. Проведение капиллярного электрофореза

Фрагментный анализ полученных ПЦР продуктов проводится в соответствии с Руководством

для экспериментов по фрагментному анализу GeneMapper для Анализатора Генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007).

1. Предварительная настройка прибора

Предварительная настройка Анализатора Генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007) включает создание пользовательских протоколов для проведения исследования (**Instrument Protocol**)¹.

1.1 Создание Instrument Protocol

Перейти в раздел Library в программе Data Collection Software.

В разделе Analyze, выбрать вкладку Instrument Protocols. В открывшемся меню нажать кнопку Create (откроется диалоговое окно создания нового Instrument Protocol). В появившемся окне указать параметры нового Instrument Protocol:

Application Type **IID**
Run Module **например "IID36_POP4"**
(выбрать протокол, соответствующий параметрам системы)
Protocol Name **IID_TEST**

Setup as Instrument Protocol

Instrument Protocol Setup Help

Application Type: **IID** | Analyze Length: **1000** | Buffer Size: **1000**

Create: **GOING** | Disable Interval: **1000**

Instrument Protocol Properties

Run Module: **IID36_POP4** | Run Module Set B: **Capillary and only, or create on the left**

Protocol Name: **IID_TEST**

Description:

Oven Temperature (°C): 60	Run Voltage (V): 13.0	PreRun Voltage (V): 15	Capillary Voltage (V): 1.2
Run Time (min): 1600	PreRun Time (min): 180	Injection Time (min): 15	Data Delay Time (min): 1

Advanced Options

Following values are not recommended for Sequenom:

Capillary Voltage (V): 1.2	Capillary Voltage (V): 1.2	Capillary Voltage (V): 1.2
Post Run Out Time (min): 180	Post Run Out Time (min): 180	Post Run Out Time (min): 180
Maximum Injection Time (min): 1600	Maximum Injection Time (min): 1600	Maximum Injection Time (min): 1600

Apply to Group | Save to Library

Рекомендуемые параметры электрофореза:

Параметр	Значение
Oven Temperature	60
PreRun Voltage	15
PreRun Time	180
Injection Voltage	1.2
Injection Time	15
Data Delay Time	1
Run Voltage	13.0
Run Time	1600

Нажать кнопку Save.

В зависимости от состояния используемого прибора параметр Injection Time может быть скорректирован пользователем для достижения оптимальной амплитуды флуоресцентного

¹ При первичном использовании прибора требуется проведение спектральной калибровки Анализатора по каналам Blue, Green, Yellow, Red, Orange в соответствии с Руководством для экспериментов по фрагментному анализу GeneMapper для Анализатора Генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007)

сигнала. Параметр Run Time также может быть скорректирован пользователем в случае, если рекомендуемое время фореза является избыточным (все фрагменты размерного стандарта детектируются существенно раньше отведенного времени) или недостаточным (не все фрагменты размерного стандарта детектируются за отведенное время). Оптимальное время фореза в наибольшей степени зависит от текущего состояния капилляров и полимера в генетическом анализаторе и может меняться со временем.

1.2 Создание Assay

Перейти в раздел Library в программе Data Collection Software.

В разделе Manage, выбрать вкладку Assays. В открывшемся меню нажать кнопку Create (откроется диалоговое окно создания нового Assay). В появившемся окне указать параметры нового Assay:

Assay Name	IVD_TEST
Application Type	IID
Instrument Protocol	IVD_TEST

Нажать кнопку Save.

1.3 Создание Size Standard

Перейти в раздел Library в программе Data Collection Software.

В разделе Analyze, выбрать вкладку Size Standards. В открывшемся меню нажать кнопку Create (откроется диалоговое окно создания нового Size Standard). В появившемся окне указать параметры нового Size Standard:



Нажать кнопку Save.

1.4 Создание QC Protocol

Перейти в раздел Library в программе Data Collection Software.

В разделе Analyze, выбрать вкладку QC Protocols. В открывшемся меню нажать кнопку Create (откроется диалоговое окно создания нового QC Protocol). В появившемся окне указать параметры нового QC Protocol:



Нажать кнопку Save.

Подготовка и загрузка продуктов амплификации

Для загрузки образцов в прибор необходимо приготовить смесь Hi-Di™ формамида и размерного стандарта S550 в следующем соотношении:

Компонент	Объем на один образец
Hi-Di™ формамид	10.0 мкл
Размерный стандарт S550	1.0 мкл

При расчете объемов компонентов смеси следует учесть, что формамидом должны быть заполнены все лунки, в которых будет происходить инжекция, в том числе и лунки, не содержащие образцы.

После перемешивания добавить по 10 мкл приготовленной смеси в каждую лунку планшета. Добавить в каждую лунку со смесью формамида и размерного стандарта S550 по 1 мкл полученного ПЦР продукта. При необходимости удалить пузыри со дна лунок планшета коротким центрифугированием. Накрыть планшет резиновым ковриком, загрузить в прибор и произвести запуск электрофореза.

2 Запуск прибора

Проведение капиллярного электрофореза на Анализаторе Генетическом Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007) проводится в соответствии с инструкцией пользователя, предоставляемой производителем. Для получения корректных результатов необходимо создать соответствующую спектральную калибровку, выполнив следующие шаги:

Шаг А – Создание планшета

Перед началом анализа необходимо создать Plate (планшет), описывающий расположение образцов на планшете и содержащий инструкции для прибора. Для этого необходимо перейти в меню Create New Plate программы Data Collection Software. Появится диалоговое окно, в котором необходимо указать параметры нового планшета:

Name Например IVD_TEST [data]

Plate Type Fragment

Нажать кнопку ОК. Появится новая таблица со схемой исследуемого планшета.

Шаг В – Заполнение таблицы

Для всех анализируемых лунок планшета необходимо указать:

Sample name имя объекта

Sample type тип образца

Assay IVD_TEST

Filename convention структура имени файла

Results group параметры сохранения файлов

Шаг С – Запуск прибора и информация о статусе прибора

После создания схемы расположения образцов на планшете, нажмите на кнопку Link Plate for Run. В открывшемся окне указать положение планшета в приборе и запустить электрофорез нажатием кнопки Start Run.

12. АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

12.1. Детекция результатов

Детекция флуоресцентного сигнала продуктов амплификации осуществляется прибором автоматически. На основании этих данных управляющая программа строит кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому из каналов детекции. Анализ полученных данных проводится в соответствии с Руководством для экспериментов по фрагментному анализу GeneMapper (на бумажном носителе или компакт-диске) для Анализатора генетического Applied Biosystems 3500, с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07007).

12.2. Интерпретация результатов

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналам детекции Blue и Green. Регистрируется сигнал амплификации исследуемых маркеров в диапазоне длин фрагментов, представленных в табл. 1.

При этом результаты электрофоретического исследования анализируемых образцов ДНК могут считаться достоверными только при условии обнаружения сигналов всех 26 фрагментов размерного стандарта S550 по каналу детекции Orange. В случае отсутствия на электрофореграмме по каналу детекции Orange хотя бы одного из фрагментов размерного стандарта S550, результаты исследования не могут считаться достоверными. В этом случае требуется провести повторное исследование образца.

Алгоритм интерпретации результатов анализа исследуемых маркеров

Учет и интерпретация результатов исследования на наличие возбудителей респираторных заболеваний человека в клиническом материале проводится на основании наличия или отсутствия сигнала флуоресценции в заданной области длины амплифицированных фрагментов. Длины фрагментов, соответствующие специфической последовательности генома возбудителей представлены в таблице 4.

Принцип интерпретации результатов:

1) В исследуемом клиническом материале выявлены специфические фрагменты генома следующих возбудителей респираторного заболевания:

Parainfluenza virus 1, Parainfluenza virus 2, Parainfluenza virus 3, Parainfluenza virus 4, Coronavirus NL63, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus OC43,

Human Adenovirus B, Rhinovirus, Human Bocavirus, Human Metapneumovirus, Chlamydomonas pneumonia, Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumonia, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae type B,

- если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в соответствующей области длины амплифицированного фрагмента, указанной для данного возбудителя в Таблице 4

2) В исследуемом клиническом материале **выявлены специфические фрагменты генома** следующих типов и подтипов **Вирусов гриппа**:

- выявлены фрагменты генома **Вируса гриппа А (Influenza A)**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 151 – 155 п.н. в соответствии с Таблицей 4
- выявлены фрагменты генома **Вируса гриппа А (Influenza A) подтипа Influenza A/H1N1/pdm09**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 151 – 155 п.н. и сигнал флуоресценции в области длины 137 – 140 п.н. в соответствии с Таблицей 4
- выявлены фрагменты генома **Вируса гриппа А (Influenza A) подтипа Influenza A/H1N1**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 151 – 155 п.н. и сигнал флуоресценции в области длины 133 – 137 п.н. в соответствии с Таблицей 4
- **выявлены фрагменты генома Вируса гриппа А (Influenza A) подтипа Influenza A/H3N2**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 151 – 155 п.н. и сигнал флуоресценции в области длины 180 – 184 п.н. в соответствии с Таблицей 4
- выявлены фрагменты генома **Вируса гриппа В (Influenza B)**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 179 – 183 п.н. в соответствии с Таблицей 4

3) В исследуемом клиническом материале **выявлены специфические фрагменты генома** следующих типов **Респираторно-синцитиального вируса**:

- выявлены фрагменты генома **Респираторно-синцитиального вируса типа А (Respiratory Syncytial Virus A)**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 154 – 158 п.н. и сигнал флуоресценции в области длины 93 – 96 п.н. в соответствии с Таблицей 4
- выявлены фрагменты генома **Респираторно-синцитиального вируса типа В (Respiratory Syncytial Virus B)**, если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 154 – 158 п.н. и не наблюдается сигнала флуоресценции в области длины 93 – 96 п.н. в соответствии с Таблицей 4

4) В исследуемом клиническом материале **выявлены специфические фрагменты генома** бактерий ***Bordetella pertussis*** и/или ***Bordetella parapertussis*** если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 121 – 125 п.н. в соответствии с Таблицей 4. Исследуемый специфический фрагмент ДНК содержится в геноме как бактерий вида ***Bordetella pertussis***, так и вида ***Bordetella parapertussis***.

5) В исследуемом клиническом материале выявлены специфические фрагменты генома **Коронавируса SARS-CoV-2** если на фореграмме наблюдается сигнал флуоресценции в области длины 116 – 119 п.н. и/или сигнал флуоресценции в области длины 125 – 129 п.н. в соответствии с Таблицей 4

6) В исследуемом клиническом материале **не выявлены специфические фрагменты генома** возбудителя респираторного заболевания, если на фореграмме не наблюдается сигнал флуоресценции в соответствующей области длины амплифицированного фрагмента, указанной для данного возбудителя в Таблице 4.

Таблица 4.

Диапазон длины амплифицированного фрагмента, п.н.	Относительные единицы флуоресцентного сигнала	Результат исследования. Выявлен специфический фрагмент генома возбудителя:
74 – 77	Не менее 50	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
78 – 82	Не менее 50	Parainfluenza virus 4
87 – 90	Не менее 50	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
92 – 95	Не менее 50	Parainfluenza virus 2
111 – 114	Не менее 50	Coronavirus OC43
116 – 119	Не менее 50	SARS-CoV-2
125 – 129	Не менее 50	SARS-CoV-2
133 – 137	Не менее 50	Influenza A H1N1
138 – 142	Не менее 50	Coronavirus 229E
141 – 145	Не менее 50	Coronavirus NL63
151 – 155	Не менее 50	Influenza A
156 – 160	Не менее 50	Human Bocavirus
161 – 165	Не менее 50	Human Metapneumovirus
171 – 175	Не менее 50	<i>Haemophilus influenzae</i> type B
179 – 183	Не менее 50	Influenza B
84 – 88	Не менее 50	<i>Legionella pneumophila</i>
89 – 93	Не менее 50	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
93 – 96	Не менее 50	Respiratory Syncytial Virus A
97 – 101	Не менее 50	Parainfluenza virus 1
102 – 106	Не менее 50	Parainfluenza virus 3
121 – 125	Не менее 50	<i>Bordetella pertussis/parapertussis</i>
126 – 129	Не менее 50	Rhinovirus
137 – 140	Не менее 50	Influenza A H1N1/pdm09
141 – 145	Не менее 50	Human Adenovirus B
154 – 158	Не менее 50	Respiratory Syncytial Virus A/B
161 – 165	Не менее 50	Coronavirus HKU1
180 – 184	Не менее 50	Influenza A H3N2

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены ожидаемые результаты для образцов Положительный контроль и Отрицательный контроль, в соответствии с таблицей оценки результатов контрольных реакций (см. табл. 5).

Таблица 5. Результаты оценки контрольных реакций

Анализируемая мишень	Положительный контроль (результат исследования)	Отрицательный контроль (результат исследования)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Parainfluenza virus 4	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Parainfluenza virus 2	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Coronavirus OC43	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
SARS-CoV-2 E-protein	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
ОТ-контроль (контрольная мишень)	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
SARS-CoV-2 N-protein	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Influenza A H1N1	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Coronavirus 229E	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Coronavirus NL63	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Influenza A	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Human Bocavirus	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Human Metapneumovirus	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
<i>Haemophilus influenzae</i> type B	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Influenza B	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
<i>Legionella pneumophila</i>	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Respiratory Syncytial Virus A	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Parainfluenza virus 1	1 фрагмент	Сигнал отсутствует
Parainfluenza virus 3	1 фрагмент	Сигнал отсутствует

<i>Bordetella pertussis/parapertussis</i>	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Rhinovirus	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Influenza A H1N1/pdm09	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Human Adenovirus	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Respiratory Syncytial Virus	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Coronavirus HKU1	I фрагмент	Сигнал отсутствует
Influenza A H3N2	I фрагмент	Сигнал отсутствует

Результаты анализа не подлежат учету в следующих случаях:

1. Если результаты анализа хотя бы одного из исследуемых маркеров в образцах Положительный контроль и Отрицательный контроль не соответствуют ожидаемым, приведенным в Таблице 5. Возможная причина: ошибки при постановке ПЦР реакции и электрофореза. Необходимо провести повторную постановку реакции ПЦР и этап электрофореза.
2. Если хотя бы для одного из исследуемых маркеров в образцах Положительный контроль отсутствует сигнал амплификации. Возможная причина: ошибки при постановке ПЦР реакции и электрофореза. Необходимо провести повторную постановку реакции ПЦР и этап электрофореза.
3. Если хотя бы для одного из исследуемых образцов (кроме образцов Положительный контроль и Отрицательный контроль) отсутствует сигнал амплификации внутреннего контроля. Возможная причина: ошибки при постановке ПЦР реакции и электрофореза. Необходимо провести повторную постановку реакции ПЦР и этап электрофореза.

13. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

13.1. Условия хранения

Набор реагентов IVD-TEST RScan должен храниться в защищенном от света месте при температуре от -25°C до -20°C в течение всего срока годности. После начала использования Набор реагентов должен быть разукomплектован. «Комплект для амплификации» и «Комплект контрольных образцов» должны храниться в зоне «пре-ПЦР», а «Комплект для электрофореза» должен храниться в зоне «пост-ПЦР». Все компоненты набора допускается хранить при температуре от -25°C до -20°C в течение всего срока годности. Срок годности Наборов – 18 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

13.2. Транспортирование

Набор реагентов IVD-TEST RScan транспортируют всеми видами транспорта (в закрытых железнодорожных вагонах, в герметичных отсеках самолетов и автомобильным транспортом) по правилам перевозок грузов соответствующих транспортных ведомств. Условия транспортирования набора должны соответствовать условиям хранения!

Набор реагентов транспортировать в течение 7 суток при температуре от -25 до -20 °C. Обеспечение температурного режима при транспортировке наборов обеспечивается использованием холодоэлементов (-20°C) или с использованием сухого льда.

14. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов набора, наборов реагентов с истекшим сроком годности проводить в соответствии СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

15. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель 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.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 121205 г. Москва, территория инновационного центра Сколково, ул. Большой Бульвар, д.42, стр. 1, эт.1 пом.337, тел./факс (499) 670-40-41, email: gordiz@gordiz.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 и эксплуатации 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.

16. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам, касающимся качества набора IVD-TEST RScan, следует обращаться в ООО «ГОРДИЗ» по адресу: 121205 г. Москва, территория инновационного центра Сколково, ул. Большой Бульвар, д.42, стр. 1, эт.1 пом.337, тел./факс (499) 670-40-41, email: gordiz@gordiz.ru

17. ПЕРЕЧЕНЬ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ

	Названия документов
Приказ МЗ РФ №4н от 06.06.2012	Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий
ГОСТ 2.114-2016	Единая система конструкторской документации. Технические условия
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации
ГОСТ 31508-2012	Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023	Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования
ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003)	Лаборатории медицинские. Требования безопасности
ГОСТ 3885-73	Реактивы и особо чистые вещества. Правила приемки, отбор проб, фасовка и маркировка.
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
ГОСТ Р 58 577- 2019	«Правила установления допустимых выбросов загрязняющих веществ промышленными предприятиями»
ГОСТ 17.2.3.01-1986	Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов
ГН 2.1.6.3492-17	Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений
СанПиН 3.3686-21	Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней
СанПиН 2.1.3684-21	СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»
МУ 1.3.2569-09	Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно!
Обратитесь к
инструкции по
применению



Код партии



Содержимого
достаточно для
проведения п-
количества тестов



Медицинское изделие
для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к
инструкции по
применению



Температурный
диапазон



Не допускать
воздействия
солнечного света



Верхнее ограничение
температуры



Дата изготовления



Изготовитель



Лист № 25 - 25