

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по клинической
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.А. Плоскирева

« 15 » июля 2024 г.

РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

по применению программного обеспечения
AmpliSens® IAV-IT Soft

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
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® IAV-IT Soft в ПО ARTS	5
Формирование и запуск постановки.....	6
Анализ и интерпретация результатов	6
Авторизация результатов ОТ-ИТ-исследования	8
Формирование бланка с результатами	9
СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ	9
ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ.....	10

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применяются следующие сокращения и обозначения:

Детектирующий амплификатор	- прибор для проведения амплификации с детекцией в режиме «реального времени»
K-	- отрицательный контроль амплификации
OK	- отрицательный контроль экстракции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ОТ-ИТ	- изотермическая амплификация с обратной транскрипцией
ПК	- положительный контроль экстракции
ПО	- программное обеспечение, программа
РНК	- рибонуклеиновая кислота
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)
IAV	- <i>Influenza virus A</i> (вирус гриппа А)

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Наименование ПО: AmpliSens® IAV-IT Soft.

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

Способ размещения и доступа ПО: входит в состав набора реагентов AmpliSens® IAV-IT. ПО AmpliSens® IAV-IT Soft и руководство оператора предоставляются на электронном носителе или на 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® IAV-IT номера минорных и незначимых изменений не указываются. Полная версия ПО, включая номера минорных и незначимых изменений, указана во вкладыше к набору реагентов и интерфейсе ПО.

ПО соответствует требованиям ГОСТ IEC 62304.

НАЗНАЧЕНИЕ

Программное обеспечение AmpliSens® IAV-IT Soft предназначено для автоматического программирования детектирующего амплификатора, совместимого

с ПО AmpliSens® RealTime Soft (далее – ПО ARTS)¹, и автоматической обработки и интерпретации результатов ОТ-ИТ-исследования при использовании набора реагентов AmpliSens® IAV-IT (далее – набор реагентов). ПО AmpliSens® IAV-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® IAV-IT Soft необходимо ПО ARTS.

В соответствии с информацией об используемом биологическом материале, реагентах, контрольных образцах и программе амплификации, указанной в ПО AmpliSens® IAV-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® IAV-IT Soft.

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

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

Технологии искусственного интеллекта в ПО AmpliSens® IAV-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.

¹ Перечень совместимых амплификаторов указан на сайте www.amplisens.ru.

Для установки ПО ARTS необходимо обратиться в техническую поддержку для загрузки и запуска установочных файлов ПО ARTS (контакты технической поддержки см. в разделе «Техническая поддержка и информация о разработчике»).

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.

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

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 (в т.ч. базы данных) 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® IAV-IT Soft в ПО ARTS

Загрузка ПО AmpliSens® IAV-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® IAV-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® IAV-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® IAV-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® IAV-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, 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 «Norm»), т.к. в данном режиме отображаются флуоресцентные кривые после математической обработки.

2. Отфильтровать кривые со статусом «Сомнительный». 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 IAV-IT Soft** будут выведены результаты, автоматически полученные ПО AmpliSens® IAV-IT Soft на основании значений порогового цикла (Ct) для исследуемых образцов, включая оценку валидности контрольных образцов и ОТ-ИТ-исследования в целом.

Результаты для контрольных образцов выводятся в виде таблицы. 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

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
	В соответствии с таблицей 1
Ошибка ПК	Интерпретация невозможна для всех образцов
Контаминация ОК	Интерпретация невозможна для образцов, в которых обнаружен определяемый аналит
Контаминация К–	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 ОТ-ИТ-исследования

После вывода результатов для исследуемых образцов во вкладке **AmpliSens IAV-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 ОТ-ИТ-исследование.
2. Отмена результата ОТ-ИТ-исследования всех образцов в постановке.
3. Авторизация результата ОТ-ИТ-исследования каждого образца.
4. Авторизация результата ОТ-ИТ-исследования всех образцов в постановке.
5. Выгрузка результатов ОТ-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 ОТ-ИТ-исследования. Вкладка **AmpliSens IAV-IT Soft** будет закрыта, результаты ОТ-ИТ-исследования будут сохранены. Для возвращения к результатам ОТ-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 ОТ-ИТ-исследования, полученные с помощью ПО AmpliSens® IAV-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® IAV-IT Soft не размещен контроль ПК	В реакционном блоке не размещен ПК	Указать положение ПК в реакционном блоке, используя кнопку ПК
Для AmpliSens® IAV-IT Soft не размещен контроль ОК	В реакционном блоке не размещен ОК	Указать положение ОК в реакционном блоке, используя кнопку ОК
Ошибка ПК	Значение C_t для ПК отсутствует или превышает граничное значение	Необходимо повторить исследование, начиная с этапа экстракции РНК, для всех образцов
Контаминация ОК	Определено значение C_t для ОК меньше граничного	Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, в которых обнаружена

Сообщение	Причина сообщения	Дальнейшие действия оператора
		специфическая РНК, начиная с этапа экстракции РНК
Контаминация К–	Определено значение C_t для К– меньше граничного	Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых обнаружена РНК анализируемого микроорганизма

ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА И ИНФОРМАЦИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ

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

- Номер версии ПО AmpliSens® IAV-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.

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 10
дедз лист 26

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



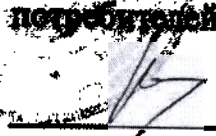
А.О.Лисицына

А.О.Лисицына

«20 г.
М.П.

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по клинической
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.А. Плоскирева

«15» июня 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**набора реагентов для выявления РНК вируса гриппа А
методом обратной транскрипции и изотермической
амплификации (ОТ-ИТ)**

AmpliSens® IAV-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@gor.ru



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	4
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ	4
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	5
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	8
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	10
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	10
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	13
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК.....	14
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	15
ФОРМА IT-200	17
СОСТАВ	17
ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	18
ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	18
ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	19
А. Подготовка проб для ОТ-ИТ.....	19
Б. Проведение ОТ-ИТ с детекцией в режиме «реального времени»	20
В. Анализ и интерпретация результатов.....	21
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	24
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ.....	25
ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	26
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ГЭ	- геномный эквивалент (геном)
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИТ	- изотермическая амплификация
кДНК	- комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
К-	- отрицательный контроль ОТ-ИТ
МР	- методические рекомендации
МУ	- методические указания
ОК	- отрицательный контроль экстракции
ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ОТ	- обратная транскрипция
ОТ-ИТ	- изотермическая амплификация с обратной транскрипцией
ПК	- положительный контроль экстракции
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РУ	- регистрационное удостоверение
СанПиН	- санитарные правила и нормы
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
Ct	- cycle threshold (пороговый цикл)
C+	- положительный контрольный образец
C-	- отрицательный контрольный образец
IAV	- Influenza A virus (вирус гриппа А)
ИТ	- isothermal amplification

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов AmpliSens® IAV-IT предназначен для качественного определения РНК вируса гриппа А в биологическом материале человека (мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки) методом обратной транскрипции и изотермической амплификации (ОТ-ИТ) с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации.

Материалом для ОТ-ИТ служат пробы РНК, экстрагированные из исследуемого биоматериала.

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

Набор реагентов применяется для диагностики. Набор реагентов используется для исследования биологического

материала, полученного от лиц с подозрением на грипп, вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

Отрицательный результат исследования не исключает возможность инфицирования вирусом гриппа А, и может быть получен при содержании вируса в образце ниже заявленной аналитической чувствительности.

Потенциальные пользователи медицинского изделия: к работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники (например, врач клинко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант), обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов используется для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на грипп, вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

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

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Клиническая лабораторная диагностика.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на одновременной обратной транскрипции РНК и изотермической амплификации участков кДНК выявляемого микроорганизма с флуоресцентной детекцией ампликонов.

Обратная транскрипция РНК проводится с помощью фермента обратной транскриптазы. Изотермическая амплификация участка кДНК 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».

Аmplифицируемая кДНК-мишень и канал детекции флуоресценции указаны в табл. 1.

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM
кДНК-мишень	кДНК IAV
Область амплификации	ген M

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Таблица 2

Характеристика	Форма IT-200
Число реакций амплификации, включая контроли	200
Тип амплификатора	роторный и планшетный
Совместимость с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей	да

Форма IT-200 используется для проведения обратной транскрипции РНК и изотермической амплификации кДНК с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции РНК.

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 РНК	Комплект для амплификации	Предел обнаружения, ГЭ (копий) / мл
Мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	100	«РИБО-преп»	Форма IT-200	1x10 ⁴
		«МАГНО-сорб»		5x10 ⁴

Примечание – Одна копия мишени кДНК соответствует одному геномному эквиваленту (геному) вируса.

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

Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает участок РНК вируса гриппа А. Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК/РНК следующих микроорганизмов/штаммов, а также геномной ДНК человека:

- штаммы из коллекции ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» в концентрации не менее 1×10^4 ГЭ (копий) / мл А/Санкт-Петербург/НИИГ-39/2020 (*Influenza virus A (H1N1)pdm09*), А/Калининград/84/2019 (*Influenza virus A (H3N2)*), А/Hong Kong/1073/1999 (*Influenza virus A (H9N2)*), А/Equine/Cordoba/5/1967 (*Influenza virus A (H7N7)*), А/Kostanay/Golden bee-eater/7a/2007 (*Influenza virus A (H5N1)*);
- 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™, *Bacteroides fragilis* ATCC® 25285™, *Bordetella bronchiseptica* ATCC® 10580™, *Bordetella pertussis* ATCC® 9340™, *Candida albicans* ATCC® 14053™, *Candida guilliermondii* ATCC® 6260™, *Candida krusei* ATCC® 14243™, *Clostridium difficile* ATCC® 9689™, *Clostridium septicum* ATCC® 12464™, *Corynebacterium jeikeium* ATCC® 43734™, *Corynebacterium minutissimum* ATCC® 23348™, *Corynebacterium xerosis* ATCC® 373™, *Eggerthella lenta* ATCC® 43055™, *Enterobacter aerogenes* ATCC® 13048™, *Enterobacter cloacae* ATCC® 13047™, *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299™, *Enterococcus faecium* ATCC® 35667™, *Erysipelothrix rhusiopathiae* ATCC® 19414™, *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Gardnerella vaginalis* ATCC® 14018™, *Haemophilus influenzae* ATCC® 9006™, *Haemophilus parainfluenzae* ATCC® 7901™, *Klebsiella oxytoca* ATCC® 49131™, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 27736™, *Listeria grayi* ATCC® 25401™, *Listeria innocua* ATCC® 33090™, *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, *Moraxella catarrhalis* ATCC® 25238™, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 19424™, *Neisseria lactamica* ATCC® 23970™, *Neisseria meningitidis* (serogroup B) ATCC® 13090™, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337™, *Proteus mirabilis* ATCC® 12453™, *Proteus vulgaris* ATCC® 6380™, *Propionibacterium acnes* ATCC® 11827™, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 15442™, *Rhodococcus equi* ATCC® 6939™, *Salmonella enterica* ATCC® 14028™, *Serratia*

marcescens ATCC® 14756™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 P™, *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™, *Staphylococcus haemolyticus* ATCC® 29970™, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC® 49907™, *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC® 13637™, *Streptococcus agalactiae* ATCC® 13813™, *Streptococcus equisimilis* ATCC® 12388™, *Streptococcus equi* ATCC® 9528™, *Streptococcus bovis* (group D) ATCC® 9809™, *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619™, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615™, *Streptococcus salivarius* ATCC® 13419™, *Streptococcus uberis* ATCC® 700407™, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC® 17802™, *Vibrio vulnificus* ATCC® 27562™;

- 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*, *Human adenovirus*, *Human rhinovirus*, *Human respiratory syncytial virus*, *Human bocavirus*, *Human parainfluenza virus 3*, *Human parainfluenza virus 4*, SARS-CoV, *Cytomegalovirus*, *Epstein-Barr virus*;
- штаммы из коллекции ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» в концентрации не более 1×10^9 ГЭ/мл и не менее 1×10^5 ГЭ/мл: В/Красноярск/09/2020 (*Influenza virus* В линия Виктория), В/Санкт-Петербург/НИИГ-346/2019 (*Influenza virus* В линия Ямагата);
- ДНК человека в концентрации 10 мкг/мл.

При тестировании образцов ДНК/РНК 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 стандартный образец предприятия с концентрацией РНК вируса гриппа А 1×10^5 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, 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 образцы мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, содержащие и не содержащие РНК вируса гриппа А.

В качестве референтного метода использовался набор реагентов «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» (ПУ № ФСР 2009/05010).

Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Диагностические характеристики набора реагентов AmpliSens® IAV-IT

Вид исследуемого материала	Диагностическая чувствительность ¹ (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность ² (с доверительной вероятностью 95 %)
Мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	99,25 (98,37-99,72) %	100 (99,54 – 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-

¹ Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

² Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

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 одноразового 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 клинико-диагностической лаборатории в 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 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) 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 ОТ-ИТ образуется больше продуктов амплификации, чем в ПЦР, поэтому требуется особая осторожность при утилизации продуктов ОТ-ИТ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Транспортная среда в соответствии с МР 3.1.0117-17 «Лабораторная диагностика гриппа и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции» (например, «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ПУ № ФСР 2009/05011)).

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

2. Зонд для взятия исследуемого биологического материала, однократного применения, стерильный.
3. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 2,0 мл.

Предварительная подготовка исследуемого материала

4. Реагент для предварительной обработки мокроты (например, реагент для предобработки слизистого материала «МУКОЛИЗИН» (РУ № ФСР 2011/12082)).
5. 0,9 % раствор натрия хлорида (стерильный физиологический раствор) или фосфатный буферный раствор (PBS) (натрия хлорид, 137 мМ; калия хлорид, 2,7 мМ; натрия монофосфат, 10 мМ; калия дифосфат, 2 мМ; pH=7,5±0,2).
6. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.
7. Завинчивающиеся крышки к пробиркам.
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, 200 и 1000 мкл.
9. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.
10. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс. g.
11. Центрифуга-вортекс.
12. Автоматические дозаторы переменного объема.
13. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
14. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
15. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция РНК из исследуемых образцов

16. Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК (например, «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147), «МАГНО-сорб» (РУ № ФСР 2010/07265)).
17. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции РНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции РНК.
18. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
19. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
20. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и

инактивации материалов.

При использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот:

21. Автоматическая станция для экстракции НК «открытого типа» (например, KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy («Термо Фишер Сайентифик Ой»), Финляндия (ПУ № ФСЗ 2009/05562)), Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd. («Ханчжоуская компания инструментов Аошэн»), Китай (ПУ № РЗН 2022/16430))).
22. Комплект реагентов для экстракции РНК на автоматической станции «открытого типа» (например, «МАГНО-сорб» (ПУ № ФСР 2010/07265)).
23. Набор необходимых расходных материалов к используемой автоматической станции в соответствии с рекомендациями производителя.

Обратная транскрипция и изотермическая амплификация с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

24. 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 или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – при использовании прибора роторного типа.

25. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 10, 100, 200 и 1000 мкл.

26. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл.

27. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс, УФ-бокс) или бокс микробиологической безопасности II класса защиты.

28. Центрифуга-вортекс.

29. Автоматические дозаторы переменного объема.

30. Автоматические станции для приготовления и дозирования реакционных смесей (например, анализатор автоматический модульный Freedom EVO с принадлежностями (TECAN Schweiz AG («ТЕКАН Швейц АГ»), Швейцария (ПУ № ФСЗ 2008/03047))).
31. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (ПУ № ФСЗ 2010/07595)), Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториез, Инк.»), США (ПУ № ФСЗ 2008/03399)), ДТ-96/«ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (ПУ № ФСР 2007/01250, ПУ № ФСР 2011/10229)), QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd. («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.»), Сингапур (ПУ № РЗН 2019/8446)).
32. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
33. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
34. Емкость для сброса наконечников.
35. ПО для запуска амплификации и автоматической обработки результатов AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) версии 1.0.0 или выше.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА⁴

Материалом для исследования служат мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки.

ВНИМАНИЕ! Мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки берут двумя зондами в одну пробирку с транспортной средой последовательно: сначала со слизистой оболочки нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, и исследуют как один образец. Не рекомендуется использовать зонды, изготовленные из природных материалов (дерево, вата).

Мазки со слизистой оболочки нижнего носового хода

Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой

⁴ См. также «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации» / Домонова Э.А., Творогова М.Г., Подколзин А.Т. [и др.]. Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. 112 с. ISBN 978-5-6045286-6-2, DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-6-2>, веб-сайт <https://prepcr.crie.ru/>

рекомендуется освободить носовые ходы (высморгаться). Сухой стерильный зонд вводят по боковой стенке носа горизонтально в нижний носовой ход и удаляют вдоль боковой стенки носа. Глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (3-4 см для детей и 5-6 см для взрослых). После взятия материала часть зонда с мазком помещают в пробирку с 0,5-1,0 мл транспортной среды, и придерживая крышкой пробирки, отламывают рукоятку зонда с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку.

Мазки со слизистой оболочки ротоглотки

Мазок берут сухим стерильным зондом вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки.

После взятия материала часть зонда с мазком помещают в пробирку с транспортной средой и зондом с мазком из носоглотки. Конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку герметично закрывают, встряхивают, чтобы увлажнить оба зонда, и маркируют.

Допускается хранение мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки до проведения исследования:

- при температуре от 2 до 8 °C – не более 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °C – в течение года.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Транспортировка вышеперечисленного материала проводится в условиях соблюдения режимов его хранения.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК⁴

Образцы мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки требуют предварительной подготовки.

Мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки

Содержимое закрытой пробирки осаждают на вортексе в течение 5 с для удаления капель с внутренней поверхности крышки. Для экстракции РНК отбирают 100 мкл образца.

Если объем образца в пробирке меньше 100 мкл и в пробирке есть зонд, следует добавить физиологический раствор или

фосфатный буфер до объема, необходимого для экстракции с учетом возможности повторного анализа образца (100-300 мкл), перемешать и осадить на вортексе в течение 5 с для удаления капель с внутренней поверхности крышки.

Если объем образца в пробирке меньше 100 мкл и зонд отсутствует, образец признать непригодным для анализа, биоматериал следует взять повторно.

При наличии в образце слизи в пробу добавляют реагент «МУКОЛИЗИН» в соотношении 1:1, инкубируют при комнатной температуре (от 18 до 25 °С), периодически помешивая на вортексе в течение 5 мин (до визуального просветления).

В случае наличия нерастворимых включений (осадка) образцы центрифугируют в течение 5 мин при 0,6 тыс g (например, 3 тыс об/мин для центрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation («Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн»), Германия). Для экстракции РНК отбирают 100 мкл надосадочной жидкости.

При необходимости повторного проведения анализа остаток образца замораживают.

Допускается хранение и транспортирование предобработанных образцов мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки до проведения ОТ-ИТ:

- при температуре от 18 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – не более 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ограничения по использованию проб

Непригодными для исследования являются мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, в которых отсутствует зонд для взятия биоматериала, при этом объем образца меньше необходимого для экстракции.

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале, используемом для

исследования (см. табл. 6).

Были протестированы модельные образцы мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Концентрация каждого потенциально интерферирующего вещества указана в табл. 6. Модельные образцы мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки содержали стандартный образец предприятия с концентрацией РНК вируса гриппа А 1×10^5 ГЭ/мл.

Таблица 6

Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
Эндогенные вещества	Кровь цельная	5 %	Не обнаружено
	Муцин	5 мг/мл	Не обнаружено
		9 мг/мл	Не обнаружено
	Гемоглобин	10 мг/мл	Не обнаружено
	ДНК человека	1 мкг/мл	Не обнаружено
	ДНК бактериальная	1 мкг/мл	Не обнаружено
Экзогенные вещества	Физиологический раствор 0,9 %	5 %	Не обнаружено
	Мирамистин 0,01 %	5 %	Не обнаружено
	Раствор Люголя с глицерином	5 %	Не обнаружено
	Водный раствор хлоргексидина биглюконата 0,05 %	5 %	Не обнаружено
	Ксилومتазолин 0,1 %	5 %	Не обнаружено
	Спирт этиловый 70 %	5 %	Не обнаружено

ФОРМА IT-200**СОСТАВ**

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

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

Эксплуатационная документация: инструкция по применению (1 шт.), паспорт качества набора реагентов (1 шт.), вкладыш к набору реагентов (1 комплект), краткое руководство к набору реагентов (1 шт.) – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование состоит из следующих этапов:

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

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

Для экстракции РНК используются комплекты реагентов «РИБО-преп», «МАГНО-сорб». Порядок работы с комплектами реагентов «РИБО-преп», «МАГНО-сорб» смотрите в инструкции к соответствующему комплекту для экстракции. Комплект реагентов «МАГНО-сорб» может применяться совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот «открытого типа»⁵. Экстракция нуклеиновых кислот проводится в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов «МАГНО-сорб».

В каждую группу экстрагируемых образцов необходимо включать по одному повтору отрицательного контроля экстракции (ОК) и положительного контроля экстракции (ПК). Контроли проходят все этапы ПЦР-исследования, начиная с этапа экстракции. ОК позволяет контролировать возможную контаминацию исследуемых образцов; ПК позволяет оценивать корректность прохождения исследования.

ВНИМАНИЕ! ОТ-ИТ рекомендуется проводить сразу после получения проб РНК. Допускается хранение проб РНК при температуре от 2 до 8 °С не более 30 мин, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – не более недели и при температуре не выше минус 68 °С – до года. Допускается однократное замораживание-оттаивание проб РНК.

Объемы реагентов и образцов при экстракции с помощью комплектов реагентов «РИБО-преп» и «МАГНО-сорб»:

Объем исследуемого образца – **100 мкл.**

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

⁵ Станции, совместимые с наборами реагентов различных изготовителей.

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

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

ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

ВНИМАНИЕ! При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

Выбор пробирок для проведения ОТ-ИТ зависит от используемого амплификатора.

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

А. Подготовка проб для ОТ-ИТ

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **5 мкл IT-mix-IAV** и **5 мкл IT-mix-E**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п. 7) плюс запас на 2 реакции.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением исследования.

2. Разморозить и перемешать содержимое пробирки с **IT-mix-IAV**, осадить капли на вортексе. Содержимое пробирки с **IT-mix-E** перемешать пипетированием, осадить капли на вортексе.

ВНИМАНИЕ! При подготовке проб для ОТ-ИТ допускается хранение реагентов при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 недель. По истечении указанного срока реагенты не использовать.

3. В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь. Смешать необходимое количество **IT-mix-IAV** и **IT-mix-E**. **Тщательно перемешать**, осадить капли на вортексе.

ВНИМАНИЕ! При работе с **IT-mix-IAV** возможно выпадение

осадка после размораживания, который полностью растворяется при нагревании до комнатной температуры. Перед приготовлением реакционной смеси необходимо убедиться в отсутствии осадка в пробирке с **IT-mix-IAV**.

4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для ОТ-ИТ исследуемых и контрольных проб.
5. Внести в каждую пробирку по **10 мкл** приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.
6. В пробирки с реакционной смесью внести по **10 мкл проб РНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

ВНИМАНИЕ! При добавлении проб РНК, экстрагированных с помощью комплектов реагентов для проведения экстракции методом магнитной сепарации, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

7. Поставить контрольные реакции:

- а) **положительный контроль экстракции (ПК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **С+**.
- б) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **С–**.

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию в лаборатории необходима постановка отрицательного контроля ОТ-ИТ (**К–**). Для этого в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл С–** (без этапа экстракции).

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

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ИТ сразу после соединения реакционной смеси с РНК-пробами и контролями.

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

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.

ВНИМАНИЕ! 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® IAV-IT Soft согласно руководству оператора;

Примечание – Детектирующий амплификатор должен быть совместим с ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS). Перечень совместимых амплификаторов указан на сайте www.amplisens.ru.

- б) либо в ручном режиме, запрограммировав амплификатор для выполнения программы, указанной в табл. 7.

Таблица 7

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналу для флуорофора	Количество циклов
1	37	5 мин	—	1
2	65	30 с	FAM	40

Примечания:

1. Температурный профиль данной программы является универсальным для тестов с изотермической амплификацией, включая тесты с обратной транскрипцией.
2. 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 ОТ-ИТ образуется больше продуктов амплификации, чем в ПЦР, поэтому требуется особая осторожность при утилизации продуктов ОТ-ИТ.

В. Анализ и интерпретация результатов

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

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации, в соответствии с табл. 8:

Таблица 8

Канал для флуорофора	FAM
Продукт амплификации	кДНК IAV

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

Результаты интерпретируют 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 РНК значения порогового цикла (C_t). При использовании ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® IAV-IT Soft значения C_t определяются автоматически.

Контроль качества исследования

Результат исследования считается валидным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и ОТ-ИТ в соответствии с табл. 9 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Таблица 9

Результаты для контролей различных этапов исследования

Контроль	Контролируемый этап исследования	Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора FAM
ПК	Экстракция РНК	<u>Определено меньше граничного</u>
ОК	Экстракция РНК	Отсутствует или больше граничного
К–	ОТ-ИТ	Отсутствует или больше граничного

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

При наличии отклонений результатов для контролей от указанных выше интерпретация ряда исследуемых образцов невозможна (см. «Возможные ошибки»).

Принцип интерпретации результатов следующий:

Таблица 10

Интерпретация результатов анализа исследуемых образцов

Значение порогового цикла (C_t) по каналу для флуорофора FAM	Результат
Отсутствует или больше граничного	РНК вируса гриппа А НЕ обнаружена
<u>Определено меньше граничного</u>	РНК вируса гриппа А обнаружена

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля экстракции (ПК) значение порогового цикла (C_t) отсутствует или превышает граничное. Необходимо повторить исследование, начиная с этапа экстракции РНК, для всех образцов.
2. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) определено значение порогового цикла (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 всех образцов, в которых обнаружена РНК анализируемого микроорганизма, начиная с этапа экстракции РНК.
3. Для отрицательного контроля ОТ-ИТ (К-) определено значение порогового цикла (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 всех образцов, в которых обнаружена РНК анализируемого микроорганизма.
4. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого 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.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 10 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение.

Реагенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

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

При подготовке проб для ОТ-ИТ допускается хранение реагентов при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 недель. По истечении указанного срока реагенты не использовать.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Допускается хранение С– при температуре до 8 °С.

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@pcr.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.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

- ГОСТ ISO 14971-2021 «Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям».
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 «Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования».
- ГОСТ Р ИСО 23840-2015 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*».
- ГОСТ Р 51088-2013 «Медицинские изделия для диагностики *ин витро*. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации» (пп. 5.2.2, 6.1.3, 6.2 (за исключением п. 6.2.4), 6.3.2-6.3.5, 6.3.12, 9, 13.2).
- ГОСТ 15.309-98 «Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения».
- ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики *ин витро*. Методы испытаний».
- Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».
- 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».
- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».
- ГОСТ IEC 62304-2022 «Межгосударственный стандарт. Изделия медицинские. Программное обеспечение. Процессы жизненного цикла».

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Содержимого достаточно для проведения <n> тестов



Код партии



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



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



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Дата изменения



Дата изготовления



Изготовитель

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 27

доверенность лист 06

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



«24» 10 2024 г.
М.П.

А.О.Лисицына

**ВКЛАДЫШ
к набору реагентов
AmpliSens® IAV-IT**

Форма ИТ-200 **REF** Н-4351-10

LOT ДД.ММ.ГГ

Настройки для приборов роторного типа

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Канал	Calibrate/Gain Optimisation.../ Опт.уровня сигн.	Threshold / Порог	Dynamic tube/ Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/ Устранение выбросов
FAM/Green	от 2FI до 5FI	0,1	включена	не используется	5 %

Настройки для приборов планшетного типа

CFX96/QuantStudio 5

Канал	Threshold / Порог
FAM	Автоматический порог

ДТ-96/«ДТпрайм»

Тип анализа	Метод	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР	Нормализация данных
Ct(Cp)	Пороговый (Ct)	Fam	70 %	Не использовать

Примечание – Пороговая линия при необходимости может быть установлена вручную на уровне 10% от максимального уровня флуоресценции, полученного для образцов ПК в последнем цикле амплификации. При этом кривая флуоресценции ПК должна пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, переходящего в линейный подъем.

Граничные значения порогового цикла Ct

Образец	Канал для флуорофора FAM
ПК	28
ОК	Ct отсутствует или > 38
К–	Ct отсутствует или > 38
Исследуемые образцы	38

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов AmpliSens® IAV-IT

Форма IT-200
REF H-4351-10

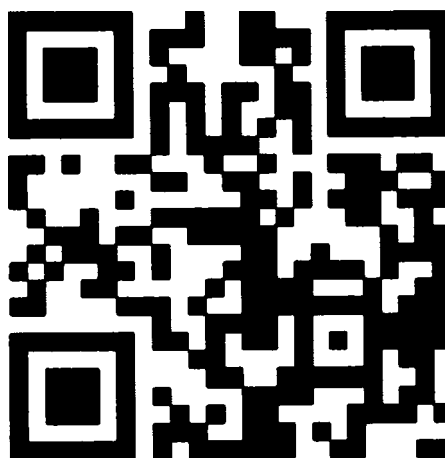


ДД.ММ.ГГ
ГГГГ-ММ-ДД

**Информация для запуска амплификации, анализа и интерпретации результатов
автоматизированным способом**

ПО AmpliSens® IAV-IT Soft v. 1.0.0

QR-код для автоматического ввода информации в ПО



КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 2
gba лист а

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



« 24 »

10

2024 г.

М.П.

А.О.Лисицына



Инструкция по применению набора
реагентов расположена на сайте
www.amplisens.ru



Краткое руководство

Набор реагентов AmpliSens® IAV-IT

Форма IT-200: **REF** H-4351-10



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

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов. Анализ и интерпретацию результатов необходимо проводить в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Комплекты для экстракции:

- «РИБО-преп»;
- «МАГНО-сорб» (с использованием магнитных штативов вручную или автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот¹).

Контроли: Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 положительный контроль экстракции (ПК), 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

Объем исследуемого образца, контролей и элюции		
При экстракции с помощью «РИБО-преп», «МАГНО-сорб» добавить:		
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
С– и С+ IT-IAV	90 мкл + 10 мкл	в пробирку для ПК
С–	100 мкл	в пробирку для ОК
Элюция		
Все образцы	50 мкл, допускается увеличение до 100 мкл	в каждую пробирку

ВНИМАНИЕ! Рекомендуется проведение ОТ-ИТ сразу после экстракции РНК.

¹ Например, KingFisher Flex, Auto-Pure 96.

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ ОТ-ИТ

Общий объем реакционной смеси: 20 мкл, включая объем пробы РНК (10 мкл).

Контроли: 1 положительный (ПК) и 1 отрицательный (ОК) контроли экстракции.

- Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси.
 - Разморозить пробирку с IT-mix-IAV. IT-mix-E перемешать пипетированием, осадить капли на вортексе.
- ВНИМАНИЕ!** При подготовке проб для ОТ-ИТ допускается хранение реагентов при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 недель. По истечении указанного срока реагенты не использовать.
- ВНИМАНИЕ!** При работе с IT-mix-IAV возможно выпадение осадка после размораживания, который полностью растворяется при нагревании до комнатной температуры. Перед приготовлением реакционной смеси необходимо убедиться в отсутствии осадка в пробирке с IT-mix-IAV.
- В отдельной пробирке подготовить реакционную смесь.

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
IT-mix-IAV	5*(N+K+2)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей; 2 – запас
IT-mix-E	5*(N+K+2)	

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ИТ.

- Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для ОТ-ИТ исследуемых проб и контролей.

Внести по 10 мкл		
Приготовленной реакционной смеси	в каждую пробирку	
Внести по 10 мкл		
Проб РНК, полученных в результате экстракции из исследуемых и контрольных образцов	в пробирки для исследуемых образцов, ОК и ПК	При проведении экстракции методом магнитной сепарации необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь!

ВНИМАНИЕ! При подозрении на возможную контаминацию в лаборатории необходима постановка отрицательного контроля ОТ-ИТ (K-). Для этого в пробирку с реакционной смесью внести 10 мкл C- (без этапа экстракции).

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ИТ сразу после соединения реакционной смеси с РНК-пробами и контролями.

ПРОВЕДЕНИЕ ОТ-ИТ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется в случае неполной загрузки приборов планшетного типа дополнительно установить пустые пробирки по углам реакционного модуля амплификатора.
- Запустить программу амплификации:
 - а) либо с использованием ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® IAV-IT Soft, детектирующий амплификатор должен быть совместим с ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) версии 1.0.0 или выше. Перечень совместимых амплификаторов указан на сайте www.amplisens.ru.
 - б) либо в ручном режиме, запрограммировав детектирующий амплификатор для выполнения программы, указанной ниже, настройки приборов роторного и планшетного типа см. во вкладыше к набору реагентов.

Цикл	Программа амплификации			
	Температура, °С	Время	Детекция по каналу для флуорофора	Кол-во циклов
1	37	5 мин	–	1
2	65	30 с	FAM	40

Примечания:

1. Температурный профиль данной программы является универсальным для тестов с изотермической амплификацией, включая тесты с обратной транскрипцией.
2. 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 ОТ-ИТ образуется больше продуктов амплификации, чем в ПЦР, поэтому требуется особая осторожность при утилизации продуктов ОТ-ИТ.

АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов проводить вручную с помощью алгоритма, приведенного в инструкции, или с помощью ПО AmpliSens® RealTime Soft (ПО ARTS) совместно с ПО AmpliSens® IAV-IT Soft.

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналу:

Канал для флуорофора	FAM
Мишень для амплификации	кДНК IAV

ВНИМАНИЕ! К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш**, в котором указаны граничные значения порогового цикла (Ct), необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов вручную.

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 2
лист а

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



А.О.Лисицына

« 24 » 10 2024 г.
М.П.

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Набора реагентов для выявления РНК вируса гриппа А методом обратной транскрипции
и изотермической амплификации (ОТ-ИТ)
AmpliSens® IAV-IT

Форма IT-200	LOT ДД.ММ.ГГ	 ГГГГ-ММ-ДД
		 ГГГГ-ММ-ДД

ТУ 20.59.52-435-01897593-2023.

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

Наименование показателя	Норма	Результаты контроля
Отрицательный результат для образца ОК (отрицательный контроль экстракции)	Значение C_t отсутствует или определено больше граничного по каналу для флуорофора FAM	соответствует
Положительный результат для образца ПК (положительный контроль экстракции)	Определено значение C_t меньше граничного по каналу для флуорофора FAM	соответствует
Положительный результат для образца ПК, разведенного в 100 раз	Определено значение C_t меньше граничного (для исследуемых образцов) по каналу для флуорофора FAM	соответствует
Отрицательный результат для образца К– (отрицательный контроль ОТ-ИТ)	Значение C_t отсутствует или определено больше граничного по каналу для флуорофора FAM	соответствует

2. Состав, внешний вид:

Наименование реагента	Характеристика и нормы	Результаты контроля	В составе формы комплектации
IT-mix-IAV	Прозрачная бесцветная жидкость (допускается выпадение осадка после размораживания)	соответствует	IT-200
IT-mix-E	Прозрачная жидкость от бесцветного до бледно-желтого цвета	соответствует	IT-200
C+ IT-IAV	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	IT-200
C–	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует	IT-200

3. Условия транспортирования и хранения:

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 10 сут в термоконтейнерах, содержащих холодоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение.

Реагенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

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

При подготовке проб для ОТ-ИТ допускается хранение реагентов при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 недель. По истечении указанного срока реагенты не использовать.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Допускается хранение C– при температуре до 8 °С.

Дата выдачи



Руководитель ГКК

(Подпись)

(Коды О.И.)
(Ф.И.О.)



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

« 24 » 10 2024 г. А.О.Лисицына