

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «ЭКОлаб»

Т.Ю. Гашенко

2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению

медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления

ДНК вируса оспы обезьян

в клиническом материале методом ПЦР

с гибридационно-флуоресцентной детекцией

в режиме реального времени

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени предназначен для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян (MPXV) в пробах клинического материала (препараты нуклеиновых кислот, выделенные из проб: содержимого кожных поражений – везикул, пузырьков; мазков с задней стенки глотки и миндалин, цельной венозной крови (ЭДТА), аутопатов кожи, легких, печени и селезенки человека) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Функциональное назначение набора реагентов «ОспаЭК» - диагностика инфекции, вызванной вирусом *Monkeypox virus*, относящимся к семейству поксвирусов и роду *Orthopoxvirus*.

Набор реагентов «ОспаЭК» предназначен в качестве вспомогательного средства в диагностике инфицирования вирусом оспы обезьян при проведении диагностических исследований и эпидемиологического мониторинга.

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

Полученные результаты анализа свидетельствуют о наличии/отсутствии ДНК вируса оспы обезьян (MPXV) в пробах клинического материала.

Набор реагентов «ОспаЭК» предназначен для однократного применения.

Набор реагентов «ОспаЭК» предназначен для клинической лабораторной диагностики.

Полное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro* (МИ ИВД): Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Сокращенное наименование МИ ИВД: набор реагентов «ОспаЭК» (далее: набор реагентов «ОспаЭК», набор реагентов, набор).

Потенциальные потребители МИ ИВД

Набор реагентов «ОспаЭК» предназначен только для профессионального использования в медицинских и научно-исследовательских учреждениях, работа лабораторий которых обеспечена в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Для работы с набором реагентов «ОспаЭК» сотрудники лаборатории должны иметь среднее или высшее образование (медицинское, биологическое), прошедшие обучение в аккредитованных организациях по вопросам обеспечения безопасности при работе с микроорганизмами I-II групп патогенности и курсы повышения квалификации по молекулярно-биологической диагностике.

Показания к применению МИ ИВД.

Набор реагентов «ОспаЭК» предназначен для обследования лиц (лиц с клиническими проявлениями, контактных, подозрительных) с подозрением на оспу обезьян.

Противопоказания

При использовании набора реагентов «ОспаЭК» специально обученным персоналом, в соответствии с настоящей инструкцией по применению противопоказания не выявлены, за исключением:

- Истекший срок годности набора реагентов «ОспаЭК».
- Нарушение внутренней упаковки компонентов набора реагентов «ОспаЭК».
- Внешний вид компонентов, входящих в состав набора реагентов «ОспаЭК», не соответствует их описанию, указанному в инструкции по применению.
- Ненадлежащие условия хранения и /или транспортирования набора реагентов «ОспаЭК».

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

В состав рода *Orthopoxvirus* семейства *Poxviridae* входят такие патогенные для человека зоонозные ортопоксвирусы, как вирусы оспы обезьян (MPXV) и оспы коров (CPXV), и другие непатогенные для человека вирусы оспы верблюдов (BOVp, CMLV), оспы мышей (вирус экстремелии, ВЭ, ECTV), оспы енотов (RCNV), оспы полевых (VPXV), оспы скунсов (SPXV) и татера поксвирус (TATV).

Все традиционные диагностические исследования включают работу с инфекционным материалом, последующее совершенствование средств и методов дифференциальной диагностики ортопоксвирусных инфекций вели в направлении максимального отказа от использования инфекционного материала (только этап выделения вирусной ДНК) и уменьшения сроков исследования для идентификации возбудителя. Наибольшее развитие получили диагностические методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Оспа обезьян является редким вирусным зоонозным заболеванием (вызываемым вирусом, передающимся человеку от животных), симптомы которого у человека схожи с симптомами, наблюдавшимися в прошлом у пациентов с натуральной оспой, однако являются менее тяжелыми.

Заражение человека происходит в результате прямого контакта с кровью, биологическими жидкостями, а также пораженной кожей или слизистой инфицированных животных и воздушно-капельным путем при длительном личном контакте.

Одним из возможных факторов риска является употребление в пищу мяса инфицированных животных без надлежащей термической обработки.

Инкубационный период (период времени от инфицирования до появления симптомов) оспы обезьян обычно составляет от 6 до 16 дней, но может колебаться от 5 до 21 дня.

Основные клинические симптомы: сильная головная боль, подъем температуры, боли в мышцах, увеличение лимфатических узлов, кожная сыпь чаще всего появляется на лице, ладонях и ступнях.

Оспа обезьян представляет собой заболевание, имеющее значение для общественного здравоохранения на глобальном уровне, поскольку оно затрагивает не только страны Западной и Центральной Африки, но и весь мир. Первая за пределами Африки вспышка оспы обезьян произошла в 2003 г. в Соединенных Штатах Америки, а источником инфицирования стал контакт с зараженными домашними луговыми собачками. Животные содержались вместе с ввезенными из Ганы гамбийскими крысами и сонями. В ходе вспышки в США было зарегистрировано 70 случаев оспы обезьян. Случаи инфицирования оспой обезьян также регистрировались у лиц, прибывших из Нигерии в Израиль (сентябрь 2018 г.), Соединенное Королевство (сентябрь 2018 г., декабрь 2019 г., май 2021 г. и май 2022 г.), Сингапур (май 2019 г.) и Соединенные Штаты Америки (июль и ноябрь 2021 г.). В мае 2022 г. из нескольких

Эпидемических по вирусу стран поступили сообщения о случаях заболевания оспой обезьян. В настоящее время ведутся исследования эпидемиологии вируса, источников заражения и путей распространения.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор реагентов «ОспаЭк» выпускается в двух вариантах комплектации.

Наименование компонента	Характеристика компонента	Комплект №1	Комплект №2
Реагенты для амплификации			
Смесь 1	Прозрачная жидкость без посторонних включений	1 пробирка (0,5 мл)	1 пробирка (0,5 мл)
Смесь 2	Прозрачная жидкость без посторонних включений	1 пробирка (1,5 мл)	1 пробирка (1,5 мл)
Положительный контрольный образец (ПКО)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	1 пробирка. (0,2 мл)	1 пробирка. (0,2 мл)
Отрицательный контрольный образец (ОКО)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	1 пробирка (1,0 мл)	1 пробирка (1,0 мл)
Планшет для ПЦР	Планшет на 96-лунок, стандартного профиля для проведения ПЦР	-	1 шт.
Пленка для ПЦР-планшета.	Клейкая, с силиконовыми капсулами для планшета для проведения ПЦР в режиме реального времени	-	1 шт.
Инструкция по применению		1 шт.	1 шт.

Примечания:

- 1) В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).
- 2) В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора реагентов «ОспаЭк» упакованы в коробку.

Паспорт на серию должен входить в комплект сопроводительной документации на продукцию.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Каждый комплект набора реагентов «ОспаЭк» рассчитан на проведение исследования 96 образцов, включая контрольные.

Методы стерилизации МИ ИВД

Компоненты, входящие в состав набора реагентов «ОспаЭк» не требует стерилизации.

Программное обеспечение для работы МИ ИВД

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт МИ ИВД

Набор реагентов «ОспаЭк» не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Выявление вируса оспы обезьян (далее – ВОО) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией включает в себя амплификацию фрагмента ДНК данного микроорганизма и гибридационно-флуоресцентную детекцию, которая производится непосредственно в ходе ПЦР. Проводится реакция амплификации фрагмента ДНК

Введена впервые

выявляемого ВОО при помощи специфичных к нему праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченные олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. К олигонуклеотидным зондам, специфичным к различным ДНК-мишеням, прикреплены различные флуоресцентные метки. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации каждой ДНК-мишени путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала по соответствующему каналу.

Детекция результатов ПЦР осуществляется без извлечения продуктов реакции из пробирок, что позволяет свести к минимуму риск контаминации продуктами ПЦР. При амплификации с помощью ПЦР-РВ используют два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих фрагмент гена OPG065, специфичного для вируса оспы обезьян, два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих фрагмент родоспецифичного для ортопоксвирусов гена OPE9L, а также три флуоресцентных зонда FAM/Green, HEX/Yellow, ROX/Orange. По каналу, соответствующему флуорофору FAM/Green, детектируется продукт амплификации ВКО. По каналу, соответствующему флуорофору HEX/Yellow детектируется продукт амплификации фрагмента ДНК вируса оспы обезьян (MPXV) в сравнении с выходом сигнала детекции канала ROX. По каналу, соответствующему флуорофору ROX/Orange детектируется продукт амплификации фрагмента ДНК родоспецифичного для Orthopoxvirus. Внутренний контроль образец (ВКО) в данном наборе является эндогенным и представляет собой амплификацию гена β -глобулина человека.

Детекция ВКО в ходе реакции амплификации свидетельствует о наличии в исследуемом образце клинического материала.

Дополнительным преимуществом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией является возможность автоматизировать интерпретацию результатов анализа, снизить субъективизм в интерпретации результатов.

Преимуществом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией являются также широкие возможности проведения мультиплексного ПЦР-анализа, т.е. одновременное проведение амплификации и детекции нескольких ДНК-мишеней (ДНК нескольких микроорганизмов) с помощью одной реакции. При этом благодаря проведенной оптимизации сохраняется высокая чувствительность в отношении каждой из выявляемых ДНК-мишеней. Использование мультиплексной ПЦР позволяет повысить производительность выполнения анализа в три-четыре раза без увеличения приборной базы лаборатории.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Материалом для исследований служат препараты нуклеиновых кислот, выделенные из проб биологического материала человека: содержимого кожных поражений – везикул, пузырьков; мазков с задней стенки глотки и миндалин, цельной венозной крови (ЭДТА), аутопатов кожи, легких, печени и селезенки человека.

Забор, хранение и транспортирование клинического материала, взятого у пациентов для установления факта инфицирования оспой обезьян, а также манипуляции с полученными образцами (обработка, хранение, транспортировка) регламентированы следующими документами:

- МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (Приложение 2 «Забор, предварительная обработка, хранение и перевозка материала на исследование»);

- МУ 3.4.2552-09 «Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения»;

- СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

МР 3.1.0290-22. «Профилактика инфекционных болезней. Противозидемические мероприятия, направленные на предупреждение возникновения и распространения оспы обезьян. Методические рекомендации».

Сбор содержимого кожных поражений (везикул, пузырьков)

Содержимое везикул отсасывают туберкулиновым шприцем, прокалывая стенку пузырька у его основания: для этой цели может использоваться игла, конец которой помещают над открытой пробиркой и несколько наклоняют его вниз, что облегчает отток жидкости. При недостаточной наполненности пузырьков в периоде подсыхания везикул для получения пробы применяют два способа. После вскрытия пузырька скальпелем или другим острым инструментом сбор остатков жидкости производят небольшими ватными тампонами (на коротком стержне), которые помещают затем в сухую пробирку, отламывая при необходимости стержни. При затруднении в использовании вышеописанного способа скальпелем или маленькими ножницами срезают верхушки пузырьков и помещают их в отдельную пробирку. Собранный из 6-10 однородных кожных элементов больного биологический материал помещают в пластиковые пробирки или флаконы с герметически закрывающимися крышками. Крышки дополнительно фиксируют – например, парафинизированным полиэтиленом (парафильмом), липкой лентой, расплавленным парафином. Биологический материал хранить можно не более 7 сут. при температуре от 2 до 8°C или не более 1 месяца при температуре минус 20°C.

Сбор орофарингеальных мазков (мазков с задней стенки глотки и миндалин)

При отсутствии у больного кожных поражений, что может иметь место в ранней стадии болезни, берут мазки с задней стенки глотки и миндалин. Процедуру осуществляют с помощью ватных тампонов на стержне, который затем опускают в пластиковую пробирку или флакон, не добавляя жидкости, и герметично ее закрывают. Мазки с задней стенки глотки и миндалин следует брать и при недостаточном количестве материала из кожных поражений.

Условия хранения биологического материала:

- при комнатной температуре – в течение 6 ч;
- при температуре 2–8°C – в течение 3 суток;
- при температуре минус 20°C – в течение 1 месяца;
- при температуре минус 70°C – длительно.

Пробы клинического материала, хранившиеся в холодильнике/морозильнике, перед анализом прогреть до комнатной температуры (20-28) °C.

Избегать повторных циклов замораживания/оттаивания проб клинического материала.

Сбор цельной венозной крови с (ЭДТА)

Взятие крови следует производить натошак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8-1,1 мм) в специальную вакуумную систему типа «Vacuette®» (сиреневые крышки – 6% ЭДТА). После взятия крови пробирку следует несколько раз плавно перевернуть вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом. В течение 6 ч с момента взятия крови следует отобрать плазму и перенести её в новую пробирку. Для отделения плазмы пробирку с кровью центрифугируют 20 мин при 800-1600 g. Хранить плазму можно не более 3-сут при температуре от 2 до 8°C или не более 1 месяца при температуре минус 20°C.

Сбор аутопатов кожи, легких, печени и селезенки:

В случае смерти больного с подозрением на оспу обезьян при аутопсии берут фрагменты кожи с поражениями, кусочки внутренних органов (кожи, лёгких, печени, селезёнки) (предпочтительнее с макроскопически видимыми поражениями).

Сразу после взятия пробы биологического материала пробирки маркируют, указывая фамилию и инициалы больного, возраст, день болезни, вид материала (например, кровь, корочки и т.д.) и дату его взятия. Остальные сведения о больном (предполагаемый диагноз, дату поступления, вакцинный статус и пр. указывают в сопроводительной карточке).

После завершения сбора образцов биологического материала от больного (больных) все инструменты и расходные материалы, а также использованные средства индивидуальной защиты (перчатки, халат и пр.) дезинфицируют согласно требованиям СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Все образцы биологического материала, собранные для лабораторных исследований, должны рассматриваться как потенциально инфекционные, и медицинский персонал,

Собирает или перевозит клинические образцы, должен строго соблюдать требования биологической безопасности как при работе с микроорганизмами I-II группы патогенности.

Перевозка образцов биологического материала должна осуществляться в соответствии с требованиями санитарного законодательства по отношению к микроорганизмам I группы патогенности.

Внимание! Пробы биологического материала человека, в отношении которого были выявлены нарушения требований данного раздела инструкции, считаются непригодными для исследования.

Условия хранения биологического материала:

Полученные образцы, можно транспортировать и хранить:

- при температуре от 2 до 8°C до 7 суток (мазки с задней стенки глотки и миндалин, плазма крови – не более 3-х сут.);

- при температуре не выше минус 20°C – до 1 месяца.

Допускается однократное замораживание-оттаивание клинических образцов биологического материала.

Доставка образцов биологического материала осуществляется в специальном контейнере с охлаждающими элементами.

Перед началом анализа пробы биологического материала, хранившиеся в холодильнике/морозильнике, прогреть до комнатной температуры (20 – 28°C) и аккуратно перемешать.

Избегать повторных циклов замораживания/оттаивания проб биологического материала.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Аналитическая чувствительность.

Предел обнаружения ДНК вируса оспы обезьян с использованием «КОЧ ОспаЭК» (Контрольного образца чувствительности) составляет 1×10^3 геном-эквивалентов в 1 мл анализируемого образца в реакции ПЦР. Таблица №1.

Был установлен путем тестирования биологического материала, в котором предварительно не была выявлена ДНК оспы обезьян, а затем был добавлен Контрольный образец чувствительности («КОЧ ОспаЭК») содержащий ДНК оспы обезьян в концентрациях $1 \times 10^2 - 4 \times 10^8$ ГЭ/мл.

Таблица №1

Аналитическая чувствительность набора реагентов «Оспа ЭК»

Вид материала	Набор для экстракции ДНК	Набор для амплификации	Предел Обнаружения ГЭ/мл	Диапазон измерений ГЭ/мл
Содержимое кожных поражений (везикул, пузырьков) ¹⁾	Любой набор для экстракции ДНК, зарегистрированный в РФ	Набор реагентов «Оспа Эк» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени	ДНК вируса оспы обезьян	1×10^3
мазков с задней стенки глотки и миндалин ²⁾				$1 \times 10^2 - 4 \times 10^8$
Цельная венозная кровь (ЭДТА) ²⁾				1×10^3
Аутопаты кожи, легких, печени и селезенки человека ¹⁾				$1 \times 10^2 - 4 \times 10^8$

Примечание: данный предел обнаружения достигается при соблюдении правил, указанных в СОП-ПО-30-14 порядок приготовления Контрольного образца чувствительности «КОЧ ОспаЭК» и инструкций по применению наборов для выделения ДНК, например, Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп»²⁾ (Производитель

ЦНИИ «ЦНИИ Эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, РУ № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021) и набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «РеалБест экстракция 100»¹⁾ (Производитель АО «Вектор-Бест», РУ № РЗН 2014/1423 от 25.03.2017г.)

2. Специфичность набора реагентов: значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange должны иметь значения меньше или равно 33 для «ПКО»; значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange не должны определяться для «ОКО».

3. Аналитическая специфичность набора реагентов была определена в рамках клинико-лабораторных испытаний на базе лаборатории ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, на смоделированных образцах биологического материала человека от условно здоровых людей, не имеющих/не имевших признаков ОРВИ и симптомов вируса оспы обезьян и аутопатов, полученных от умерших людей, не имевших в патологоанатомическом диагнозе данных за ОРВИ и признаков заболевания, вызываемого вирусом оспы обезьян, контаминированных гетерологичными вирусами музейных тест-штаммов из коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, в концентрации 10^5 копий/мл:

- вируса оспы коров, штамм Брайтон;
- вируса оспы коров, штамм Н-53;
- вируса оспы коров, штамм Пума;
- вируса оспы верблюдов, штамм Гурьев;
- вирус оспы кроликов, штамм МНИИВП;
- вирус экстремелии;
- вирус оспы буйволов, штамм Бангладеш;
- вируса вакцины, штамм Л-ИВП;
- вирус оспы кроликов, штамм Утрехт;
- вирус оспы обезьян, штамм Конго-8;
- вируса вакцины, штамм Б-51.

Перекрестно реагирующих вирусов обнаружено не было.

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения (LoD)) была определена в ходе клинико-лабораторных испытаний на смоделированных положительных образцах биологического материала человека:

- отрицательный биологический материал человека (мазок с задней стенки глотки и миндалин; цельная венозная кровь (ЭДТА); образец кожных поражений (содержимое везикул и пузырьков); аутопат печени; аутопат лёгких; аутопат селезёнки; аутопат кожи)

- инаktivированный препарат культуры вируса оспы обезьян штамм «Конго-8», в концентрации 10^3 копий/мл в каждом типе анализируемого образца биологического материала человека и составила не более $1,0 \times 10^3$ копий ДНК в миллилитре пробы (копий·мл⁻¹) с воспроизводимостью не менее 95%.

4. Влияние интерферирующих веществ

При сборе клинического материала необходимо учитывать влияние интерферирующих веществ (эндогенных и экзогенных), которые могут встречаться в клинических образцах и ингибировать выделение ДНК.

Материал	Активный компонент	Заключение
Цельная кровь	Гемоглобин (концентрация в крови ~ 160 мг/мл), при проведении ПЦР уменьшает выход при концентрации в реакционной смеси >1 мг/мл	Добавление мешающего вещества до соответствующей концентрации не оказало
Гепарин	Ингибирует ПЦР при концентрации более 0,15 Ед./мл, не устраняется органическими растворителями и переосаждением).	значительного влияния на результат теста.
Непригодные для исследования	образцы цельной крови, взятые в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта; образцы цельной крови, содержащие кровяной сгусток или подвергшиеся заморозке.	

Сведения о других интерферирующих веществах, при условии соблюдения правил взятия исследуемого материала, указанных в инструкции, отсутствуют.

5. Воспроизводимость

Внутрисерийная воспроизводимость – положительный образец – 10 из 10 =100%, отрицательный образец – 10 из 10 =100%, для МРХV.

Межсерийная воспроизводимость – положительный образец – 50 из 50=100%, отрицательный образец – 50 из 50=100%, для МРХV.

Исследования были определены путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Условия внутрисерийной воспроизводимости 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 набора реагентов «ОспаЭК» одной серии.

6. Диагностические характеристики.

- диагностическая чувствительность обнаружения ДНК вируса оспы обезьян – клинические испытания, проведенные на 120 смоделированных положительных образцах, продемонстрировали 100% чувствительность (интервал 96,97-100,0%, с доверительной вероятностью 95%);

- диагностическая специфичность обнаружения ДНК вируса оспы обезьян – клинические испытания, проведенные на 250 отрицательных образцах, показали 100% специфичность (интервал 98,54%-100%, с доверительной вероятностью 95 %);

- внутрипостановочная повторяемость результатов исследования образцов на выявление ДНК вируса оспы обезьян набором реагентов «ОспаЭК» во всех формах выпуска на всех использованных в испытаниях приборах составляет 100% с коэффициентом вариации пороговых циклов амплификации 10-ти повторов каждого образца не более 2,96% ;

- межсерийная воспроизводимость результатов исследования образцов на выявление ДНК вируса оспы обезьян набором реагентов «ОспаЭК» во всех формах выпуска на всех использованных в испытаниях приборах составляет 100% с коэффициентом вариации пороговых циклов амплификации 5-ти повторов каждого образца не более 2,46 %.

Коэффициент вариации для повторяемости для 5 проб биологического материала человека, содержащего инактивированный препарат культуры вируса оспы обезьян штамм «Конго-8», не превышает 3%.

Коэффициент вариации для воспроизводимости для 10 проб биологического материала человека, содержащего инактивированный препарат культуры вируса оспы обезьян штамм «Конго-8», не превышает 6%.

Ограничения метода.

При наличии мутаций в анализируемой области генома, вследствие ухудшения гибридизации праймеров или зондов с ДНК, могут наблюдаться ложноотрицательные реакции.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора реагентов «ОспаЭК» – класс 3 (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 №4н).

При работе с набором реагентов «ОспаЭК» следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские». Вирус оспы обезьян отнесен к I группе патогенности. Работа с материалом подозрительным на зараженность вирусом оспы обезьян должна проводиться в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности» и МУ 3.4.2552-09 «Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения» и "МР 3.1.0290-22.3.1. Профилактика инфекционных болезней. Противоэпидемические мероприятия, направленные на предупреждение возникновения и распространения оспы обезьян. Методические рекомендации".

При работе с набором реагентов «ОспаЭК» необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и

Введена впервые

проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Требования к помещениям, оборудованию, расходным материалам.

Температура в помещениях лаборатории при проведении исследований должна быть от 20 до 28°C, относительная влажность - от 15 до 75%.

Исследования проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

Каждый этап анализа должен проводиться в специально выделенных рабочих зонах (помещениях). Лабораторный процесс должен быть однонаправленным (работу следует начинать в зоне (помещении) экстракции, продолжать в зонах (помещениях) амплификации и детекции).

Запрещается перемещать лабораторное оборудование, дозаторы, штативы, посуду, рабочую одежду, головные уборы и др. из одного помещения в другое.

Дозаторы и другое измерительное и дозирующее оборудование должны быть поверены и промаркированы.

Использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку *RNase-free*, *DNase-free*. Для манипуляций с набором реагентов «ОспаЭК», пробами клинического материала и анализируемыми образцами (пробами выделенной ДНК) использовать одноразовые пробирки и наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером, одноразовые перчатки без талька.

Безопасность персонала

При работе медицинский персонал должен использовать средства индивидуальной защиты: блузон, брюки, халат, шапочку, тапочки или сабо, очки защитные, полумаску, одноразовые неопудренные перчатки, нарукавники одноразовые.

Тщательно вымыть руки по окончании работы.

В случае приема внутрь компонентов набора реагентов «ОспаЭК» немедленно обратиться за медицинской помощью.

Все реагенты, входящие в состав компонентов набора реагентов «ОспаЭК», в используемых концентрациях, являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают.

Набор реагентов «ОспаЭК» не содержит материалы биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным и влияющим на репродуктивную функцию человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности набор реагентов «ОспаЭК» безопасен.

Весь клинический материал является потенциально инфицированным, поэтому при работе с ним необходимо использовать индивидуальные средства защиты: лабораторные перчатки, лабораторные халаты, шапочку, очки защитные, полумаску, нарукавники одноразовые.

Сведения о дезинфекции и утилизации

Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочие поверхности дезинфицировать в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Все поверхности в лаборатории ежедневно подвергать влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.

Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению, расчёт режима работы бактерицидных УФ-ламп для обеззараживания воздуха и/или поверхностей в помещении проводится в соответствии с Руководством Р 3.5.1904-04 «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях».

Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

Токсичные отходы не образуются в процессе использования и утилизации набора реагентов «ОспаЭК» с истекшим сроком годности.

Отходы, образующиеся в процессе использования и утилизации набора реагентов «ОспаЭК» с истекшим сроком годности, относятся к классу В и подлежат обязательному обеззараживанию.

После истечения срока годности коробки и пакеты утилизируются как отходы класса А (эпидемиологически безопасные).

Компоненты МИ ИВД с наличием предупредительных знаков об опасности на упаковке следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности.

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

Неиспользованные компоненты, компоненты с истекшим сроком годности, а также использованные компоненты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, отходы после амплификации 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».

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы:

- бокс биологической безопасности II класса защиты по ГОСТ Р ЕН 12469-2010, (например, Бокс бактериальной воздушной среды для работы с ДНК-пробами при проведении ПЦР-диагностики БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия РУ № ФСР 2010/07114)

- амплификатор с детекцией результатов в режиме «реального времени»:

- CFX96 - Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями, ООО «Био-Рад Лаборатории», Россия, РУ № ФСЗ 2008/03399;

- «ДТпрайм» – Амплификатор детектирующий «ДТпрайм», ООО «НПО ДНК-Технология» Россия, РУ № ФСР 2011/10229;

- QuantStudio 5 - Амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.», Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446;

- Rotor-Gene – Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q, с принадлежностями, «КИАГЕН ГмбХ», Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595);

- оптические пробирки для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностики), адаптированные для используемого амплификатора (например, производитель «Сайентифик Спешиалис Инкорпорейтед (ЭсЭсАй)», РУ №ФСЗ 2011/10287);

- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 70°C (например; «Термит» с таймером ТТ-2, РУ № ФСР 2012/14090, производитель ООО «НПО ДНК-Технология» или подобный);

- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин (например, MiniSpin, Eppendorf, РУ № РЗН 2016/4617; IEC MicroCL 17, АО "Термо Фишер Сайентифик" РУ № ФСЗ 2008/01225);

- вортекс (например, вортекс персональный V-1 plus, РУ №ФСЗ 2011/09797, производитель SIA «Biosan»);

- набор дозаторов переменного объема (1-10 мкл, 10-100 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл) (например, производитель «Сарториус Биохит Ликвид Хендлинг Ой», РУ №РЗН 2019/9356; АО «Термо Фишер Сайентифик», ТУ 9443-007-33189998-2007, РУ №ФСР 2007/01095);

- одноразовые наконечники с фильтрами (Filter ерТ.I.P.S. PCR clean) для дозаторов (например, производитель «Эппендорф АГ», РУ №ФСЗ 2009/04520);

- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл; (например, пробирки Safe-Lock PCR clean с защелкой, объемом от 0,5мл до 2,0мл (Safe-Lock PCR clean tubes 0,5-2,0ml), РУ №ФСЗ 2009/04520; производитель «Эппендорф АГ»);

- холодильник от +2°C до +8°C, с морозильной камерой от минус 24°C до минус 16°C (например, производитель АО «ПОЗИС», РУ №ФСР 2012/13773);
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников (например, ЗАО "ПТП Киль", РУ №ФСР 2007/00917);
- штативы для пробирок и наконечников (например, производитель «Эппендорф АГ», РУ №ФСЗ 2009/04520);
- пробирка микроцентрифужная (Эппендорфа) из полипропилена, Россия, ООО «МиниМед», РУ № РЗН 2015/2596.
- комплект средств для обработки рабочего места.

*Примечание * При работе с ДНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free».*

1. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Поступившие в лабораторию образцы биологического материала человека подлежат обязательной инаktivации в зоне приема и регистрации материала (зона 1).

Сначала образцы биологического материала человека необходимо тщательно перемешать на вортексе в течение 30 сек и осадить капли кратковременным центрифугированием.

Инаktivация проводится в зоне 1 (зона приема и регистрации материала) при температуре 70°C в течении 10 мин в термостате (например, твердотельный термостат «Термит» или «Гном», термошейкер, термостат ТС-1/80 СПУ).

После инаktivации образцов пробирки с образцами передаются в зону 2 для проведения экстракции ДНК.

После проведения процедуры обеззараживания производится выделение ДНК в соответствии с Инструкцией по применению набора реагентов для выделения.

Внимание! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free», RNase-free.

Выделение ДНК из образцов содержимого кожных поражений – везикул, пузырьков; аутопатов кожи, легких, печени и селезенки человека можно проводить с любым коммерческим набором (например, Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «РеалБест экстракция 100», производитель АО «Вектор-Бест», РУ № РЗН 2014/1423 от 25.03.2017г.) Элюирование ДНК проводить в 50 мкл

Выделение ДНК из образцов мазков с задней стенки глотки и миндалин, цельной венозной крови (ЭДТА), можно проводить с любым коммерческим набором (например, Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп», производитель ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, РУ № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021) или любыми коммерческими наборами для экстракции согласно их инструкции по применению.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. ПОДГОТОВКА ПЦР-СМЕСИ

0. Разморозить все реагенты (при необходимости), перемешать (перевернув пробирки несколько раз) и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

I. В каждую постановку амплификации помимо исследуемых образцов (N) должны входить 2 контрольных образца: отрицательный контрольный образец (ОКО) и положительный контрольный образец (ПКО).

II. В пробирке объемом 1,5-2 мл приготовить «Мастер Микс»:

$15 \cdot (N+1)$ мкл Смесь 2 + $5 \cdot (N+1)$ мкл Смесь 1

Где N – общее количество реакций амплификации с учетом контрольных образцов.

Перемешать «Мастер Микс» на вортексе 5 сек, осадить кратковременным центрифугированием и внести по 20 мкл в пробирки для проведения ПЦР.

III. В подготовленные пробирки добавить по 5 мкл экстрагированных ДНК.

IV. Поставить контрольные реакции амплификации:

1) Отрицательный контрольный образец (ОКО) – внести в пробирку 5 мкл ОКО;

2) Положительный контрольный образец (ПКО) – внести в пробирку 5 мкл ПКО.

Герметично закрыть пробирки крышками. В случае наличия пузырьков в растворе или

ль на стенках пробирок – удалить кратковременным центрифугированием.

Примечание:

При работе с комплектом № 2 (с планшетом для ПЦР и пленкой для ПЦР- планшета) на приборе ДТ (ДНК-технология):

1. Приготовление «Мастер Микс»

0,5x(N+1) мкл Смесь1 + 15x(N+1) мкл Смесь2

где N – общее количество реакций амплификации с учетом контрольных образцов.

2. Перемешать «Мастер Микс» на вортексе, осадить кратковременным центрифугированием и внести по 15 мкл «Мастер Микс» в лунки планшета для проведения ПЦР

Добавить по 5 мкл экстрагированных ДНК.

Поставить контрольные реакции амплификации:

Отрицательный контрольный образец (ОКО) – внести в пробирку (или лунку планшета) 5 мкл ОКО;

Положительный контрольный образец (ПКО) – внести в пробирку (или лунку планшета) 5 мкл ПКО.

Герметично закрыть планшеты пленкой. В случае наличия пузырьков в растворе или капель на стенках – удалить кратковременным центрифугированием.

2.2. ПОСТАНОВКА РЕАКЦИИ АМПЛИФИКАЦИИ

2.2.1. Поместить подготовленные для проведения ПЦР пробирки (или планшеты) в амплификатор.

2.2.2. В соответствии с инструкцией к прибору запрограммировать амплификатор, как указано в табл. 2

Таблица 2. Параметры амплификации

Шаг	Температура, °C	Время	Кол-во циклов
1	55	10 мин	1
2	95	2 мин	1
3	95	5 сек	5
4	60	15 сек	
5	67	15 сек	
6	95	5 сек	40
7 Детекция по каналам: FAM/Green, HEX/Yellow, ROX/Orange	60	15 сек	
8	67	15 сек	

2.2.3. В соответствии с инструкцией к прибору запрограммировать положение пробирок (или исследуемых образцов, внесенных в лунки планшета) в амплификаторе. Также допускается выполнять данный шаг во время проведения амплификации или по ее окончании, если это позволяет программное обеспечение прибора.

2.2.4. Дать название эксперимента и сохранить его на диске (в этом файле будут автоматически сохранены результаты данного эксперимента). Запустить амплификатор.

2.2.4.1. Для приборов «Rotor-Gene» перед запуском выбрать функцию: «Perform Calibration Before 1st Acquisition/Perform Optimization Before 1st Acquisition/Выполнить оптимизацию при 1-м шаге детекции». Для всех каналов установить параметры «Min Reading/Миним. Сигнал» – 5Fl и «MaxReading/Максим. Сигнал» – 10Fl.

2.2.4.2. На амплификаторе «Quant Studio 5» во вкладке «Properties» выбрать в поле Rune mode «Fast» (Быстрый) во вкладке «Plate» - «Advanced Setup» в качестве канала детекции MPXV необходимо выбрать VIC (соответствует каналу HEX по длинам волн флуоресценции).

2.2.4.3. Для прибора «ДТпрайм» войти во вкладку «Настройки» в ней найти «экспозиция измерений» и установить значение 3000 для всех каналов. Далее войти в «разное» и во вкладке «Коэффициент преобразования» установить 7,0. Во вкладке «Фильтр» поставить галочку и установить границы валидности равными 97.

2.2.4.4. Для прибора «CFX96» В окне Run Setup во вкладке Protocol нажать кнопку Select Existing, в окне Select Protocol выбрать необходимый файл с программой амплификации, нажать кнопку Открыть. В окне Run Setup перейти во вкладку Plate, нажать кнопку Select Existing, в окне Select Plate выбрать необходимый файл со схемой планшета, нажать кнопку Открыть. Отредактировать схему, нажав на кнопку Edit selected. Во вкладке Select Fluorophores, выбрать в колонке Selected флуорофоры, указанные в инструкции по применению набора. В меню Sample type выбрать Unknown для всех образцов. Запустить выполнение программы, нажав на кнопку Start Run.

3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Перед началом анализа необходимо задать настройки в соответствии с инструкцией к прибору.

а) для приборов типа «Rotor-Gene»*:

- установить значение параметра выбросов («NTC threshold/Порог Фона») – 5%. При необходимости порог фона может быть изменен в диапазоне 0–30%**;
- установить значение параметра пороговой линии («Threshold/Порог») – 0,05. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 0,05–0,2**;
- при необходимости допускается активация функций «Dynamic tube/Динамич.фон» и «Slope Correct/Коррек. Уклона».

б) для приборов «Bio-Rad CFX96»*:

- установить значение параметра пороговой линии («Single Threshold») – 50. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 25–500**;
- при необходимости допускается активация функций «Apply Fluorescence Drift Correction» и «Baseline Subtracted Curve fit».

в) для приборов «ДТпрайм»*:

- установить «Метод» – «Пороговый (Ct)»;
- установить значение параметра пороговой линии 5%, полученного для образца ПКО в последнем цикле амплификации. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 0–30%.**

г) для приборов «Quant Studio 5»*:

- установить значение параметра пороговой линии 5%, полученного для образца ПКО в последнем цикле амплификации. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 0–30%.**

д) для прочих амплификаторов

* в зависимости от установленной версии программного обеспечения названия команд могут несколько отличаться.

** Необходимость корректировки выбросов возникает в случаях сильных колебаний флуоресценции в отдельных пробах.

Набор реагентов «ОспаЭК» валидирован со всеми указанными амплификаторами.

3.2. Выбрать логарифмическую шкалу для отражения результатов и визуально проконтролировать пересечение пороговой линии в линейной части роста кривой амплификации. При пересечении пороговой линии с кривой амплификации не в линейном участке – переместить ее вручную до необходимого уровня.

Результаты анализа интерпретируются на основании наличия/отсутствия пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией (что соответствует наличию/отсутствию значения порогового цикла «Ct» в соответствующей графе в таблице результатов).

3.3. Удостовериться, что ПЦР-исследование валидно: контрольные точки анализа должны соответствовать значениям, приведенным в Таблице 3.

Таблица 3. Оценка результатов анализа контрольных точек

Контрольная точка	Значение «Ct» по каналу FAM/Green	Значение «Ct» по каналу HEX/Yellow	Значение «Ct» по каналу ROX/Orange
ОКО	Не детектируется	Не детектируется	Не детектируется

ВКО	≤ 33	≤ 33	≤ 33
	≤ 33	Не детектируется	Не детектируется

В случае несоответствия контрольных точек ОКО и ПКО необходимо провести повторное исследование всех образцов начиная со стадии постановки ПЦР.

3.4. Интерпретировать результаты ПЦР-анализа исследуемых образцов в соответствии с Таблицей 4.

Таблица 4. Таблица интерпретации результатов образцов

Результат образца	Значение «Ct» по каналу FAM/Green (ВКО)	Значение «Ct» по каналу HEX/Yellow (MPXV)	Значение «Ct» по каналу ROX/Orange
Положительный*	+/-	≤ 33	≤ 33
Отрицательный	+	> 33 или отсутствует	> 33 или отсутствует
Невалидный	-	-	-

«-» обозначает отсутствие значения «Ct», график амплификации не пересекает пороговую линию;

«+» обозначает наличие значения «Ct», график амплификации пересекает пороговую линию;

«+/-» – значение «Ct» для данного канала не анализируется;

* **Внимание!** при интерпретации полученного результата обязательно учитывать критерии интерпретации, указанные в п.п. 3.4.1. настоящей инструкции.

3.4.1. Выявление индикации вируса оспы обезьян (MPXV) происходит по каналу HEX/Yellow.

Если выход (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции по каналу HEX/Yellow относительно выхода (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции канала ROX/Orange составляют 1-4 циклов ($1-4 \text{ CtHEX} < \text{CtROX}$), то это свидетельствуют о наличии специфических фрагментов ДНК вируса оспы обезьян в данной микропробирке, рис. 1

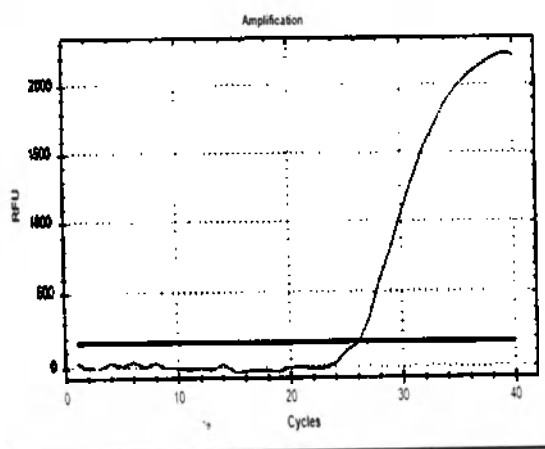


Рис. 1 ДНК вируса оспы обезьян $1-4 \text{ CtHEX}=25.37 < \text{CtROX}=27.08$

Если выход (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции по каналу HEX/Yellow относительно выхода (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции канала ROX/Orange составляют более 4 циклов ($4 \text{ CtHEX} > \text{CtROX}$), то это свидетельствуют о наличии фрагментов ДНК другого Orthopoxvirus, рис. 2

	≤ 33	≤ 33	≤ 33
ВКО	≤ 33	Не детектируется	Не детектируется

В случае несоответствия контрольных точек ОКО и ПКО необходимо провести повторное исследование всех образцов начиная со стадии постановки ПЦР.

3.4. Интерпретировать результаты ПЦР-анализа исследуемых образцов в соответствии с Таблицей 4.

Таблица 4. Таблица интерпретации результатов образцов

Результат образца	Значение «Ct» по каналу FAM/Green (ВКО)	Значение «Ct» по каналу HEX/Yellow (MPXV)	Значение «Ct» по каналу ROX/Orange
Положительный*	+/-	≤ 33	≤ 33
Отрицательный	+	> 33 или отсутствует	> 33 или отсутствует
Невалидный	-	-	-

«-» обозначает отсутствие значения «Ct», график амплификации не пересекает пороговую линию;

«+» обозначает наличие значения «Ct», график амплификации пересекает пороговую линию;

«+/-» – значение «Ct» для данного канала не анализируется;

* **Внимание!** при интерпретации полученного результата обязательно учитывать критерии интерпретации, указанные в п.п. 3.4.1. настоящей инструкции.

3.4.1. Выявление индикации вируса оспы обезьян (MPXV) происходит по каналу HEX/Yellow.

Если выход (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции по каналу HEX/Yellow относительно выхода (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции канала ROX/Orange составляют 1-4 циклов ($1-4 \text{ CtHEX} < \text{CtROX}$), то это свидетельствуют о наличии специфических фрагментов ДНК вируса оспы обезьян в данной микропробирке, рис.1

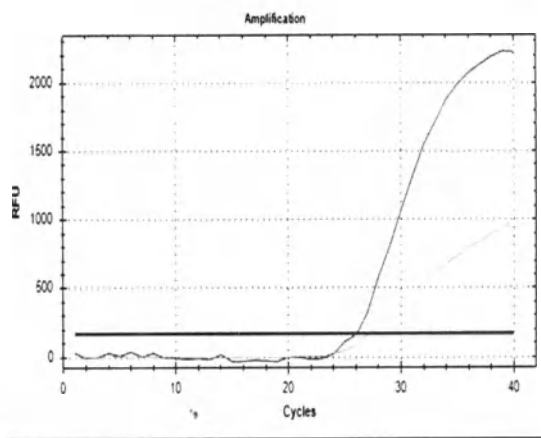


Рис. 1 ДНК вируса оспы обезьян $1-4 \text{ CtHEX}=25.37 < \text{CtROX}=27.08$

Если выход (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции по каналу HEX/Yellow относительно выхода (Ct) кинетической кривой роста сигнала флуоресценции канала ROX/Orange составляют более 4 циклов ($4 \text{ CtHEX} > \text{CtROX}$), то это свидетельствуют о наличии фрагментов ДНК другого Orthoroxvirus, рис. 2

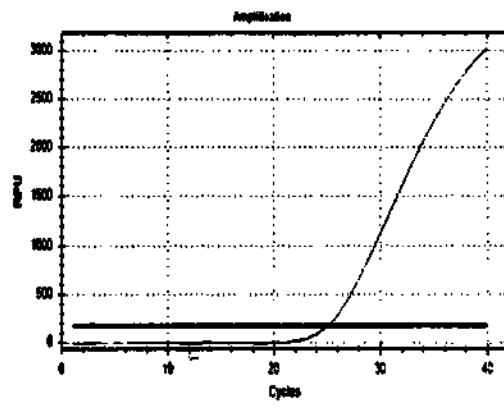


Рис.2 ДНК другого Orthoroxvirus 4 CtHEX=25.05 > CtROX=16.58

Если по каналу HEX/Yellow получены отрицательные результаты, а по каналу ROX/Orange положительные, то это значит, что в пробе выявлен другой вирус из Orthoroxvirus.

В случае невалидного результата требуется повторно провести ПЦР-исследование соответствующего образца, начиная с этапа внесения клинического материала в ПЦР-смесь или со стадии забора материала у пациента.

Повторный невалидный результат свидетельствует о некачественном отборе клинического материала и требует перепостановки начиная с этапа отбора клинического материала.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов «ОспаЭК» – 12 месяцев с даты приемки ОБТК предприятия-изготовителя. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение компонентов для амплификации: Смесь1, Смесь2, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образца (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24°C до -16°C в течение всего срока годности.

После вскрытия неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24°C до -16°C до истечения срока годности. Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Хранение планшета для ПЦР при температуре от 2°C до 25°C - в течение 5 лет, пленки для ПЦР планшета - при температуре от 2°C до 25°C в течение 2 лет.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8°C транспортом всех видов, в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, не более 30 суток. Влажность и давление не влияет на условия транспортирования и хранения.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

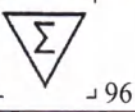
Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени соответствует ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2, национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «ОспаЭК», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1а, Акционерное Общество «ЭКОлаб» (АО «ЭКОлаб»); тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/факс 8(49643) 3-30-85, 8 (800) 333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов «ОспаЭК» заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предел температуры
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения 96- тестов
	Использовать до
	Обратитесь к инструкции по применению
	Запрет на повторное применение
	Беречь от влаги
	Хрупкое, обращаться осторожно

Директор АО «ЭКОлаб» по научной работе

«СОГЛАСОВАНО»

ВРИО Генерального директора

ФГБУ «Национальный институт качества»

Росздравнадзора

« 30 » 10 2023 г.

С.Г. Марданлы

И.А. Казьмин



Прошито, пронумеровано
и скреплено печатью в количестве
(16) листов
30.10.23



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
16 лист 06
Ген. директор АО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"30.10" 2023 г.

ПАСПОРТ №357

Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления
ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией
в режиме реального времени

ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2

РУ №

Каталожный № 100.06.1

(100 определений)

№ серии: 01

Условия хранения: см. ниже

Комплект №1

Дата изготовления: 2022.07.26

Годен до: 2023.07.26

№ п/п	Наименование компонента Характеристика	Описание	Результат контроля
Внешний вид компонентов			
1.	Смесь 1 1 пробирка (0,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
2.	Смесь 2 1 пробирка (1,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
3.	Положительный контрольный образец (ПКО) 1 пробирка (0,2 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
	Отрицательный контрольный образец (ОКО) 1 пробирка (1,0 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
	Инструкция по применению – 1 шт.		Соответствует
Технические характеристики			
6.	Аналитическая чувствительность (Предел обнаружения)	ДНК вируса оспы обезьян с использованием «КОЧ ОспаЭК» (контрольный образец чувствительности) составляет 1х10 ³ геном-эквивалентов в 1 мл анализируемого образца в реакции ПЦР	Соответствует, 1х10 ³ ГЭ/мл
7.	Специфичность значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ПКО»	по каналам FAM/Green , HEX/Yellow и ROX/Orange должны иметь значения меньше или равно 33	Соответствует Ct по каналу FAM/Green 26 Ct по каналу HEX/Yellow 27 Ct по каналу ROX/Orange 30
	значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ОКО»	по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange не должны определяться	Соответствует Ct не определяется по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange

Хранение компонентов для амплификации: Смесь1, Смесь2, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образец (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих

регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24 °С до -16 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24 °С до -16 °С до истечения срока годности.

Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Транспортирование: При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, не более 30 суток. Влажность и давление не влияет на условия транспортирования и хранения.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набора реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2.

Дата выдачи паспорта 14.08.2023 *

Начальник ОБТК

Т.В. Морозова



Примечание: *

Дата выдачи паспорта - 14.08.2023 г. в связи с изменением организационно-правовой формы юридического лица и уточнением наименования МИ.

при
сах
ий

АО "ЭКОлаб"
142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1-1А.
Тел. 8-800-333333-47

ПАСПОРТ №358

**Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления
ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией
в режиме реального времени**

ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2

РУ №

Каталожный № 100.06.2

(100 определений)

№ сери: 02

Условия хранения: см. ниже

Комплект № 2

Дата изготовления: 2022.07.26

Годен до: 2023.07.26

№ п/п	Наименование компонента Характеристика	Описание	Результат контроля
Внешний вид компонентов			
Реагенты для амплификации			
1.	Смесь 1 1 пробирка (0,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
2.	Смесь 2 1 пробирка (1,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
3.	Положительный контрольный образец (ПКО) 1 пробирка (0,2 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
4.	Отрицательный контрольный образец (ОКО) 1 пробирка (1,0 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
5.	Планшет для ПЦР- 1 шт.	Планшет на 96-лунок, стандартного профиля для проведения ПЦР	Соответствует
6.	Пленка для ПЦР планшета- 1 шт.	Клейкая, с силиконовыми капсулами для планшета для проведения ПЦР в режиме реального времени	Соответствует
7.	Инструкция по применению – 1 шт.		Соответствует
Технические характеристики			
8.	Аналитическая чувствительность (Предел обнаружения)	ДНК вируса оспы обезьян с использованием «КОЧ ОспаЭК» (контрольный образец чувствительности) составляет 1х10 ³ геном-эквивалентов в 1 мл анализируемого образца в реакции ПЦР	Соответствует, 1х10 ³ ГЭ/мл
9.	Специфичность значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow	по каналам FAM/Green , HEX/Yellow и ROX/Orange должны иметь значения меньше или равно 33	Соответствует Ct по каналу FAM/Green 26 Ct по каналу HEX/Yellow 27

и ROX/Orange для «ПКО»		Ct по каналу ROX/Orange 30
значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ОКО»	по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange не должны определяться	Соответствует Ct не определяется по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange

Хранение компонентов для амплификации: Смесь1, Смесь2, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образец (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24°C до -16°C в течение всего срока годности.

После вскрытия неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24°C до -16°C до истечения срока годности.

Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Хранение планшета для ПЦР при температуре от 2°C до 25°C - в течение 5 лет, **пленки для ПЦР** планшета - при температуре от 2°C до 25°C в течение 2 лет.

Транспортирование: При температуре от 2 до 8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, не более 30 суток. Влажность и давление не влияет на условия транспортирования и хранения.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набора реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2.

Дата выдачи паспорта 14.08.2023 *

Начальник ОБТК



Т.В. Морозова

Примечание: *

Дата выдачи паспорта - 14.08.2023 г. в связи с изменением организационно-правовой формы юридического лица и уточнением наименования МИ.

АО "ЭКОлаб"
142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1-1А.
Тел. 8-800-333333-47

ПАСПОРТ №359

**Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления
ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией
в режиме реального времени**

ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2

РУ №

Каталожный № 100.06.1

(100 определений)

№ серии: 03

Условия хранения: см. ниже

Комплект №1

Дата изготовления: 2022.07.27

Годен до: 2023.07.27

№ п/п	Наименование компонента Характеристика	Описание	Результат контроля
Внешний вид компонентов			
1.	Смесь 1 1 пробирка (0,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
2.	Смесь 2 1 пробирка (1,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
3.	Положительный контрольный образец (ПКО) 1 пробирка (0,2 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
4.	Отрицательный контрольный образец (ОКО) 1 пробирка (1,0 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
5.	Инструкция по применению – 1 шт.		Соответствует
Технические характеристики			
6.	Аналитическая чувствительность (Предел обнаружения)	ДНК вируса оспы обезьян с использованием «КОЧ ОспаЭК» (контрольный образец чувствительности) составляет 1х10 ³ геном-эквивалентов в 1 мл анализируемого образца в реакции ПЦР	Соответствует, 1х10 ³ ГЭ/мл
7.	Специфичность значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ПКО»	по каналам FAM/Green , HEX/Yellow и ROX/Orange должны иметь значения меньше или равно 33	Соответствует Ct по каналу FAM/Green 27 Ct по каналу HEX/Yellow 29 Ct по каналу ROX/Orange 30
	значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ОКО»	по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange не должны определяться	Соответствует Ct не определяется по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange

Хранение компонентов для амплификации: Смесь1, Смесь2, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образец (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный

режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24°C до -16°C в течение всего срока годности.

После вскрытия неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24°C до -16°C до истечения срока годности.

Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Транспортирование: При температуре от 2 до 8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, не более 30 суток. Влажность и давление не влияет на условия транспортирования и хранения.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества Набора реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2.

Дата выдачи паспорта 14.08.2023*

Начальник ОБТК

Т.В. Морозова



Примечание: *

Дата выдачи паспорта - 14.08.2023 г. в связи с изменением организационно-правовой формы юридического лица и уточнением наименования МИ.

АО "ЭКОлаб"

142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1-1А.
Тел. 8-800-333333-47

ПАСПОРТ №360

Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы обезьян в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени

ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2

РУ №

Каталожный № 100.06.2

(100 определений)

№ серии: 04

Условия хранения: см. ниже

Комплект № 2

Дата изготовления: 2022.07.27

Годен до: 2023.07.27

№ п/п	Наименование компонента Характеристика	Описание	Результат контроля
Внешний вид компонентов			
Реагенты для амплификации			
1.	Смесь 1 1 пробирка(0,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
2.	Смесь 2 1 пробирка(1,5 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
3.	Положительный контрольный образец (ПКО) 1 пробирка(0,2 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
4.	Отрицательный контрольный образец (ОКО) 1 пробирка(1,0 мл)	Прозрачная жидкость без посторонних включений	Соответствует
5.	Планшет для ПЦР- 1 шт.	Планшет на 96-лунок, стандартного профиля для проведения ПЦР	Соответствует
6.	Пленка для ПЦР планшета- 1 шт.	Клейкая, с силиконовыми капсулами для планшета для проведения ПЦР в режиме реального времени	Соответствует
7.	Инструкция по применению – 1 шт.		Соответствует
Технические характеристики			
8.	Аналитическая чувствительность (Предел обнаружения)	ДНК вируса оспы обезьян с использованием «КОЧ ОспаЭК» (контрольный образец чувствительности) составляет 1х10 ³ геном-эквивалентов в 1 мл анализируемого образца в реакции ПЦР	Соответствует, 1х10 ³ ГЭ/мл
9.	Специфичность значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и	по каналам FAM/Green , HEX/Yellow и ROX/Orange должны иметь значения меньше	Соответствует Ct по каналу FAM/Green 27 Ct по каналу HEX/Yellow 29

ROX/Orange для «ПКО»	или равно 33	Ct по каналу ROX/Orange 30
значение Ct по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange для «ОКО»	по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange не должны определяться	Соответствует Ct не определяется по каналам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange

Хранение компонентов для амплификации: Смесь1, Смесь2, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образец (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24 °C до -16 °C в течение всего срока годности.

После вскрытия неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24 °C до -16 °C до истечения срока годности.

Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Хранение планшета для ПЦР при температуре от 2 °C до 25 °C - в течение 5 лет, **пленки для ПЦР** планшета - при температуре от 2 °C до 25 °C в течение 2 лет.

Транспортирование: При температуре от 2 до 8 °C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорт данного вида, не более 30 суток. Влажность и давление не влияет на условия транспортирования и хранения.

Заключение: Качество расфасовки, комплектность, маркировка, упаковка, показатели качества. Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления ДНК вируса оспы об... клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-344-70423725-2022 с изм. № 2.

Прошнуровано,
и скреплено печатями
4 ли

Ген. директор А

27 10

Дата выдачи паспорта 14.08.2023 *

Начальник ОБТК



Примечание: *

Дата выдачи паспорта - 14.08.2023 г. в связи с изменением организационно-правовой формы юридического лица и уточнением наименования МИ.