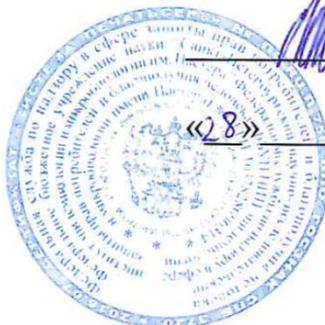


Дата выдачи документа
«28» февраль 2024 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН НИИ
эпидемиологии и микробиологии имени
Пастера

Тотолян А. А.



«28» февраль 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени (nOPV-2 Amp PS)

Версия 2

1. Назначение медицинского изделия.....	3
1.1 Тип анализируемого образца.....	3
1.2 Требования в отношении подготовки пользователей	3
1.3 Специфическая патология	3
1.4 Предназначение МИ для клинической лабораторной диагностики	4
2. Характеристика МИ	4
2.1 Принцип метода	4
2.2 Состав Набора реагентов	5
2.3 Функциональные показатели МИ	6
3. Меры предосторожности	8
4. Требуемое дополнительное оборудование и материалы.....	10
5. Анализируемые пробы	11
6. Проведение исследования.....	13
7. Условия транспортирования и хранения МИ.....	20
8. Указания по безопасной утилизации	20
9. Гарантии производителя	21
10. Ремонт и техническое обслуживание	21
11. Объяснение используемых символов	21
12. Контактная информация для обращений	23
13. Информация о пересмотре настоящей Инструкции.	23

Настоящая инструкция содержит информацию, необходимую для правильного и безопасного применения медицинского изделия (МИ) для *in vitro* диагностики «Набор реагентов для выявления РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени (nOPV-2 Amp PS)», разработанного и произведенного Федеральным бюджетным учреждением науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

1. Назначение медицинского изделия

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*: качественного выявления РНК нового модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 (nOPV2) в препаратах нуклеиновых кислот, полученных из образцов фекалий человека.

1.1 Тип анализируемого образца

Образцами для анализа являются фекалии человека.

1.2 Требования в отношении подготовки пользователей

К работе с МИ допускаются только специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории, в установленном порядке в том числе, имеющие квалификацию врач клиничко-диагностической лаборатории или фельдшер-лаборант.

Организация лабораторной диагностики вируса полиомиелита осуществляется в соответствии с требованиями санитарного законодательства по работе с патогенными микроорганизмами. Лаборатории организаций, имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека той группы патогенности, которая соответствует вирусу полиомиелита и условия для работы (методом ПЦР или другими методами), могут организовывать работу по диагностике вируса полиомиелита без выделения возбудителя, пользуясь зарегистрированными в установленном государственном порядке тест-системами в соответствии с инструкцией по применению. К работе допускаются специалисты, имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний той группы патогенности, к которой относится вирус полиомиелита.

1.3 Специфическая патология

Новый модифицированный вакцинный штамм полиовируса типа 2 (nOPV2) не является патогенным и не вызывает заболевания полиомиелитом, по имеющимся данным научных исследований. Штамм nOPV2 содержится в некоторых вакцинах, используемых для вакцинопрофилактики полиомиелита, и может содержаться в биообразцах полученных от людей, прошедших вакцинацию такими вакцинами.

Полиомиелит относится к острым инфекционным заболеваниям вирусной этиологии и характеризуется разнообразием клинических форм – от abortивных до паралитических. Паралитические формы возникают при

поражении вирусом полиомиелита клеток передних рогов спинного мозга и двигательных ядер черепных нервов, и проявляются развитием вялых парезов/параличей конечностей, реже мимической мускулатуры или мышц туловища.

Источником инфекции является человек – больной или носитель. Полиовирус появляется в отделяемом носоглотки через 36 часов, а в испражнениях – через 72 часа после заражения и продолжает обнаруживаться в носоглотке в течение одной, а в испражнениях – в течение 3–6 недель (лица с дефектами иммунитета могут выделять полиовирус в течение более длительного времени). Наибольшее выделение вируса происходит в течение первой недели заболевания.

Основной механизм передачи возбудителя – фекально-оральный, пути передачи – водный, пищевой, контактно-бытовой. Эпидемиологическое значение имеет также аспирационный механизм передачи возбудителя с воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями передачи.

1.4 Предназначение МИ для клинической лабораторной диагностики

Набор реагентов используется для исследования материала, полученного от лиц больных полиомиелитом, с подозрением на полиомиелит, с синдромом ОВП, здоровых лиц, для выявления нового модифицированного вакцинного штамма nOPV2 в образцах фекалий человека.

2. Характеристика МИ

2.1 Принцип метода

Метод ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией включает процессы выделения РНК из образцов материала, ферментативного синтеза комплементарной ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция), амплификации целевых последовательностей кДНК в ходе ПЦР, детекцию продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Экстракция РНК из биологического материала проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО), который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Также на разных этапах используются контрольные образцы, входящие в Набор реагентов: положительный контрольный образец (ПКО nOPV-2) для контроля обратной транскрипции РНК, положительный контроль ПЦР (К+ nOPV-2), отрицательный контрольный образец для контроля обратной транскрипции РНК (ОКО) и отрицательный контроль ПЦР (К-).

Реакция обратной транскрипции проводится с целью образования комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК.

Детекция целевой последовательности кДНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 происходит по мере накопления продукта ПЦР путем регистрации сигнала флуоресценции, испускаемого ДНК-зондами. Уровень сигнала флуоресценции количественно зависит от концентрации целевой последовательности кДНК в реакционной смеси.

В процессе полимеразной цепной реакции происходит амплификация фрагментов кДНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 и кДНК ВКО. Для амплификации специфического участка кДНК используются олигонуклеотидные праймеры, комплементарные целевой последовательности кДНК, фермент ДНК-полимеразы. Для детекции накопления продукта ПЦР используются флуоресцентные ДНК-зонды. В ходе реакции происходит гибридизация (нековалентное связывание) праймеров и ДНК-зондов с комплементарным участком целевой последовательности ДНК. Образование специфического продукта ПЦР в присутствии фермента ДНК-полимеразы сопровождается отщеплением флуоресцентной метки от зондов благодаря наличию у ДНК-полимеразы 5'-экзонуклеазной активности. Флуоресцентный зонд к кДНК вакцинного штамма nOPV2 имеет спектр испускания, позволяющий проводить регистрацию сигнала флуоресценции по каналу детекции HEX/Yellow, флуоресцентный зонд к кДНК ВКО имеет спектр испускания, позволяющий проводить регистрацию сигнал флуоресценции по каналу детекции FAM.

Учет результатов и установление наличия РНК штамма nOPV2 производится путем анализа данных о пороговом цикле ПЦР (Ct) образца. Ct – цикл ПЦР, при котором сигнал флуоресценции достигает значения отличимого от уровня фона.

Прибор для ПЦР автоматически строит график зависимости уровня сигнала флуоресценции от цикла ПЦР в реальном времени для каждого оптического канала и вычисляет значения пороговых циклов (Ct), которые интерпретируются оператором согласно настоящей инструкции по применению. В ходе интерпретации делается вывод о результате исследования.

Для ПЦР следует использовать термоциклеры (амплификаторы), имеющие функцию детекции флуоресценции в режиме реального времени по каналам FAM/Green и HEX/Yellow планшетного (например, C1000 Touch с оптическим модулем CFX96 или CFX384 ((Bio-Rad Laboratories Inc. («Био-Рад Лабораториз Инк»)), США, РУ № ФСЗ 2008/03399)) или роторного типа (например, Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), РУ № ФСЗ 2010/07595), разрешенные к использованию для диагностики *in vitro*.

2.2 Состав Набора реагентов

Набор реагентов выпускается в одном варианте комплектации, рассчитанном на 100 определений, включая положительные и отрицательные контрольные образцы (табл. 1), при условии использования одного положительного и отрицательного образца с не менее чем десятью клиническими пробами.

Таблица 1– Состав Набора реагентов

Бокс № 1:
Реактив Amp 1RT (0,10 мл) – 1 шт.;
Реактив Amp 1B (1,25 мл) – 1шт.;
Реактив Amp 2 nOPV-2 (0,15 мл) – 1 шт.;

К+ nOPV-2 (0,10 мл) – 1 шт.;
К- (0,45 мл) – 1 шт.
Бокс № 2:
ВКО (1,00 мл) – 1 шт.;
ПКО nOPV-2 (1,00 мл) – 1 шт.;
ОКО (0,45 мл) – 1 шт.
Инструкция по применению - 1 шт.
Копия паспорта качества - 1 шт.

Каждое изделие сопровождается инструкцией по применению и копией паспорта качества (по 1 шт.). Инструкция по применению и копия паспорта качества должны быть изготовлены в бумажном виде. Также они могут быть дополнительно представлены на официальном сайте производителя в электронном виде (<https://pasteurorg.ru>).

Инструкция и Копия паспорта качества упакованы во внешнюю упаковку (коробку из картона).

Реактив Amp 1RT представляет собой смесь ферментов для ОТ-ПЦР, содержащую ревертазу и ДНК-полимеразу.

Реактив Amp 1B представляет собой буферный раствор для ОТ-ПЦР, содержащий дезоксинуклеозидтрифосфаты.

Реактив Amp 2 nOPV-2 представляет собой раствор, содержащий олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно меченые олигонуклеотидные зонды.

ВКО (внутренний контрольный образец) представляет собой взвесь псевдовиральных частиц на основе фага MS2, содержащих нуклеотидную последовательность искусственной РНК, амплифицируемую в реакции ОТ-ПЦР с участием праймеров к ВКО и детектируемую с участием зондов к ВКО в составе Реактива Amp 2 nOPV-2.

К+ nOPV-2 (положительный контроль) представляет собой смесь двух типов кДНК: препарат плазмиды, содержащей последовательность кДНК нового модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2, и препарат плазмиды, содержащей последовательность кДНК ВКО.

К- (отрицательный контроль) представляет собой воду для лабораторного анализа.

ПКО nOPV-2 (положительный контрольный образец) представляет собой взвесь псевдовиральных частиц на основе MS2 фага, содержащих специфический фрагмент РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2.

ОКО (отрицательный контрольный образец) представляет собой воду для лабораторного анализа.

2.3 Функциональные показатели МИ

2.3.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения определен путем построения стандартной кривой на основе данных о пороговых циклах флуоресценции в ОТ-ПЦР в ходе амплификации кДНК, синтезированной на матрице РНК, выделенной из

последовательных десятикратных разведений взвеси псевдовиральных частиц фага MS2, в состав которого входит нуклеотидная последовательность РНК вакцинного штамма nOPV2. Установленный предел обнаружения составляет 1000 копий/мл РНК нового модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 для термоциклеров планшетного типа и 10000 копий/мл РНК штамма nOPV2 на 1 мл анализируемого образца для термоциклеров роторного типа.

2.3.2 Интерферирующие вещества

Присутствие ингибиторов ПЦР в исследуемом образце может стать причиной сомнительных и ложноотрицательных результатов. Были протестированы модельные образцы, представляющие собой биологический материал (фекалии) с добавлением ПКО nOPV-2

Модельные образцы тестировались без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Максимальная концентрация потенциально интерферирующих веществ в модельных образцах и наличие интерференции указаны в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследований потенциальных интерферентов

Потенциальные интерференты (эндогенные)	Концентрация интерферента в образце	Наличие интерференции
Билирубин	210 мкмоль/л	Не обнаружено
Гемоглобин	250 г/л	Не обнаружено
ДНК человека	1 мкг/мл	Не обнаружено
Муцин	9 мг/мл	Не обнаружено

Потенциальными интерферирующими веществами являются компоненты биологического материала, которые способны связываться с нуклеиновыми кислотами, ингибиторы ПЦР (гемоглобин, муцин, билирубин). Содержание интерферентов и ингибиторов в образцах зависит от типа анализируемого образца. Для образцов фекалий, как правило, характерно минимальное присутствие гемоглобина, муцина и билирубина, поэтому их влияние на эффективность выделения РНК и проведения ПЦР несущественно. Однако в некоторых случаях их присутствие может быть значительным.

Для контроля влияния интерферирующих веществ, эффективности экстракции РНК и возможного ингибирования ПЦР необходимо использовать ВКО, входящий в состав набора реагентов для контроля выделения нуклеиновых кислот, и который добавляется в каждый биологический образец на этапе экстракции нуклеиновых кислот. При проведении исследования наличие сигнала, свидетельствующего о нормальном прохождении ПЦР с ВКО, говорит о достаточной эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибиторов ПЦР. В случае отсутствия сигнала необходимо повторное взятие образца и проведение повторного анализа.

2.3.3 Аналитическая специфичность

При разработке Набора реагентов nOPV-2 Amp PS в качестве генетической мишени была выбрана нуклеотидная последовательность 5'-

нетранслируемой области генома вируса штамма nOPV2 в районе транслокации цис-действующего элемента репликации *cre5*.

На этапе разработки производителем, была подтверждена аналитическая специфичность путем исследования с помощью МИ nOPV-2 Amp PS образцов, содержащих ДНК/РНК штаммов гетерологичных вирусов, полученных из ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита): вакциноподобный штамм полиовируса Sabin 1; вакциноподобный штамм полиовируса Sabin 2; вакциноподобный штамм полиовируса Sabin 3; дикий штамм полиовируса типа 1 (Mahoney); дикий штамм полиовируса типа 2 (MEF); дикий штамм полиовируса типа 3 (Saukett); дивергировавший полиовирус вакцинного происхождения типа 2 (штамм ПВВП2 53344); неполиомиелитные энтеровирусы вида EV-C (CVA21 (штамм 48793) и CVA24 (штамм 68427)), вида EV-A (CVA16 (штамм 49360) и EV-A71 (штамм 46973)) и EV-B (CVB5 (штамм 68236), E6 (штамм 68223)), E11 (штамм 67760), E30 (штамм 48461).

2.3.4 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность определена, как процент истинно положительных результатов от суммы истинно положительных и ложноотрицательных результатов, при проведении исследования клинических образцов, в том числе, содержащих целевую последовательность нуклеотидов кДНК штамма nOPV2. Диагностическая чувствительность составляет по данным клинико-лабораторных испытаний 100 % как для образцов фекалий. Однако истинная диагностическая чувствительность с доверительным интервалом 90 % составляет 95 % при $n = 50$ для образцов фекалий.

2.3.5 Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность определена как процент истинно отрицательных результатов от суммы истинно отрицательных и ложноположительных результатов при проведении исследования клинических образцов, в том числе, содержащих целевую последовательность нуклеотидов кДНК штамма nOPV2. Диагностическая специфичность составляет по данным клинико-лабораторных исследований 100 % как для образцов фекалий. Однако истинная диагностическая специфичность, при доверительном интервале 90 % составляет 95 % при $n = 50$ для образцов фекалий.

2.3.6 Воспроизводимость

В результате исследования воспроизводимости в клинико-лабораторных испытаниях установлено, что среднеквадратическое отклонение порогового цикла амплификации (C_t) по каналу FAM в одной аналитической серии составляет 0,3358 циклов амплификации (серия 1), 0,4494 циклов амплификации (серия 2), по каналу HEX составляет 0,2590 циклов амплификации (серия 1) и 0,4287 циклов амплификации (серия 2). Межсерийная воспроизводимость: 0,6231 циклов амплификации (канал FAM), 0,6357 циклов амплификации (канал HEX) между двумя аналитическими сериями.

3. Меры предосторожности

3.1 Общие требования

Полиовирусы относятся согласно СанПин 3.3686-21 к патогенным биологическим агентам (ПБА) III группы патогенности.

Лаборатория, выполняющая работы с материалом, потенциально инфицированным полиовирусами, должна иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о соответствии санитарным правилам условий проведения работ с ПБА III-IV групп, а также проведения работ с ПБА II группы, не сопровождающихся накоплением (культивированием или концентрированием) жизнеспособного патогена.

К работе с материалом, потенциально инфицированным полиовирусами, следует допускать только профессиональных сотрудников, имеющих разрешение на работу с ПБА III-IV групп и прошедших обучение на курсах профессиональной подготовки с освоением методов безопасной работы с ПБА.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

– процесс работы с образцами, оборудованием и реагентами должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в зоне подготовки (№1), продолжать в зоне выделения НК (№2) и проведения ПЦР (№3). Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса;

– утилизировать образцы в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами СанПиН 3.3686-21;

– использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов;

– поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин;

– набор реагентов предназначен для дробного однократного применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»);

– применять набор строго по назначению в соответствии с инструкцией по применению;

– все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СанПиН 3.3686-21;

– не использовать набор реагентов, если при первом использовании заводская упаковка вскрыта или повреждена, 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 медицинские одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, ламинарные боксы во время работы с образцами и реагентами, тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводить только в перчатках для исключения контакта с организмом человека (пользователя);

- 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;

- информационное письмо о безопасности набора реагентов доступно по запросу к производителю.

3.2 Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности МИ безопасно.

4. Требуемое дополнительное оборудование и материалы

4.1 Набор реагентов не содержит реагентов для выделения РНК. Для выделения РНК следует использовать один из наборов:

- Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" по ТУ 9398-106-01897593-2012. Формы комплектации: форма 4 вариант 100-200М и форма 5 вариант 5000-200М. РУ № ФСР 2010/07265. Применение данного комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК совместно с Набором реагентов nOPV-2 Amp PS валидировано.

Также при выделении РНК следует использовать оборудование и материалы, предписанные инструкцией по применению к выбранному набору для выделения РНК.

4.2 Другое требуемое оборудование и материалы

- программируемый амплификатор (термоциклер) с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени с обязательным наличием каналов детекции флуоресценции (FAM/SybrGreen/Green) и JOE/HEX планшетного типа. Валидированы для совместного применения с МИ: термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот C1000 Touch с оптическим модулем CFX96 или CFX384 ((Bio-Rad Laboratories Inc. («Био-Рад Лабораториз Инк»)), США, РУ № ФСЗ 2008/03399) планшетного типа или роторного типа – Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), РУ № ФСЗ 2010/07595.

- бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) («БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО, «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07114);

- мини-центрифуга для пробирок типа «Эппендорф» со скоростью вращения до 13000 об/мин (мини-центрифуга Microspin 12, BioSan, Латвия, РУ № ФСЗ 2011/10116);

- дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 2 до 20 мкл; от 20 до 200 мкл; от 100 до 1000 мкл («Биохит», Россия; РУ № РЗН 2019/9356);

– штативы для пробирок объемом 0,2 мл, 1,5 мл («SSI», США; РУ № ФСЗ 2011/10287);

– одноразовые наконечники с аэрозольным барьером, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз для дозаторов пипеточных одноканальных переменного объема («SSI», США; РУ № ФСЗ 2011/10287);

– микропробирки типа «Эппендорф», 1,5/2,0 мл, сертифицированные на отсутствие нуклеаз ("Эппендорф АГ", Германия, РУ № ФСЗ 2009/04520);

– тонкостенные оптически прозрачные пробирки для ПЦР сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз объемом 0,2 мл с плоской крышкой («SSI», США, РУ № ФСЗ 2011/10287)

– центрифуга-вортекс со скоростью вращения 1500–3000 об/мин (мини-центрифуга-вортекс FV-2400, BioSan, Латвия, или аналогичная по техническим характеристикам);

– холодильник, поддерживающий температуру от 2 °С до 8 °С;

– морозильная камера, поддерживающая температуру от минус 28 °С до минус 14 °С;

– емкость для сброса отходов;

– отдельный халат, шапочки, обувь и перчатки медицинские одноразовые неопудренные;

Допускается применение других материалов и оборудования, эквивалентных по техническим характеристикам и квалификации.

5. Анализируемые пробы

Образцами для анализа являются фекалии.

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, 2021 г.

В соответствии с действующей в России нормативно-методической документацией, клинический материал от пациентов с подозрением на полиомиелит, острыми вялыми параличами должен исследоваться в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и МУК 4.2.2410-08. «Организация и проведение вирусологических исследований материалов от больных полиомиелитом, с подозрением на это заболевание, с синдромом острого вялого паралича (ОВП)».

5.1 Забор материала на исследование

Все действия по подготовке проб, должны проводиться в соответствии с положениями, перечисленными в разделе «Меры предосторожности».

Фекалии: получение осветленного фекального экстракта, приготовление 10–20 % фекальной суспензии (фекалии водянистой консистенции могут использоваться без приготовления суспензии).

5.2 Порядок подготовки проб фекалий

В пробирки объемом 1,5 мл с 1,0 мл фосфатно-солевого буферного раствора (при необходимости хранения фекальной суспензии более 24 ч при

температуре ниже 0 °С использовать 15–20 % раствор глицерина (глицерин дистиллированный по ГОСТ 6824-96) в фосфатно-солевом буферном растворе (Таблетки фосфатно-солевого буфера, ООО НПП "Панэко", Россия) внести 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно перемешать на вортексе до образования гомогенной суспензии. Оптимальная концентрация суспензии около 10 % (по объёму осадка после центрифугирования). Сбросить капли с крышек пробирок кратковременным центрифугированием на вортексе (не более 10 с). Фекалии водянистой полупрозрачной консистенции использовать для экспресс-фльтрации без предварительного получения суспензии.

5.3 Проведение экспресс-фльтрации фекальной суспензии

Для экспресс-фльтрации использовать 2 наконечника на 1 мл (один с аэрозольным фильтром, другой – без него) и рабочую часть зонда-тампона (например, зонд-тампон стерильный в индивидуальной упаковке (полистирол с тампоном из вискозы). В наконечник без аэрозольного фильтра вставить рабочую часть зонда-тампона, длина рукоятки которого не должна превышать 1,5 см, и зафиксировать проталкиванием в суженную часть наконечника. Наконечником с аэрозольным фильтром отобрать 1 мл фекальной суспензии, вставить его в подготовленный наконечник с фильтром до крепкого сцепления наконечников во избежание разбрызгивания и под давлением провести фильтрацию в чистую пробирку. При затруднённой фильтрации рекомендуется уменьшить концентрацию фекальной суспензии.

Для экстракции НК использовать 100 мкл осветлённого фильтрата, если иной объём не предусмотрен инструкцией по применению к набору реагентов.

5.4 Условия хранения предварительно подготовленных образцов суспензии фекалий

- при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С – в течение 7 сут.;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Допускается транспортировка предварительно обработанных образцов суспензии фекалий при температуре 2–8 °С в течение 24 ч.

5.5 Условия транспортирования, хранения и утилизации исходного материала

Требования к сбору материала: в пробирках, которые имеют винтовые крышки с наружной резьбой. На пробирки следует наносить четкие, несмываемые надписи.

Условия транспортирования: при температуре от 18 °С до 25 °С – в течение 6 часов, при температуре от 2 °С до 8 °С – в течение 3 суток, при температуре не выше минус 16 °С – в течение 7 суток.

Условия хранения: при температуре не выше минус 16 °С – в течение 7 суток.

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

Утилизация материала (медицинских отходов класса В), как эпидемически опасных отходов осуществляется в соответствии с действующим законодательством.

5.6 Подготовка материала к выделению нуклеиновых кислот

Подготовку проводят в соответствии с инструкциями по применению для наборов реагентов для выделения РНК, рекомендованными для совместного применения с данным медицинским изделием (см. раздел 4 Требуемое дополнительное оборудование и материалы).

6. Проведение исследования

6.1 Условия проведения процедуры исследования

Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Все работы проводят при температуре от 20 °С до 28 °С, относительной влажности от 15 до 75%. Набор не содержит веществ и материалов, требующих обеспечения специальных мер безопасности, и не представляет опасности для людей в течение всего срока годности.

Необходимо использовать медицинские одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, ламинарные боксы во время работы с образцами и реагентами, тщательно вымыть руки по окончании работы.

Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

Необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

Не допускается повторное использование наконечника.

Все использованные одноразовые материалы подвергают обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией.

6.2 Меры предотвращения контаминации (загрязнения нуклеиновыми кислотами)

Исследования следует проводить с учетом методических указаний к организации работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим патогенные биологические агенты (ПБА).

Разные этапы работы необходимо проводить в отдельных помещениях в условиях изолированных зон, снабженных необходимыми расходными материалами и оборудованием. В работе с набором реагентов задействованы следующие зоны:

- зона № 1 для приема, регистрации и первичной обработки биологического материала (подготовка исследуемых образцов);
- зона № 2 для выделения нуклеиновых кислот;
- зона № 3 для проведения ОТ-ПЦР и учета результатов.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится пробоподготовка и ОТ-ПЦР, следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ не менее 30 мин.

6.3 Требования к персоналу

Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами, обученными методам молекулярной диагностики, правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. К

работе с материалом, потенциально инфицированным полиовирусом, следует допускать только профессиональных сотрудников, имеющих разрешение на работу с ПБА соответствующей группы и прошедших обучение на курсах профессиональной подготовки с освоением методов безопасной работы с ПБА, в том числе, имеющие квалификацию врач клинико-диагностической лаборатории или фельдшер-лаборант.

6.4 Экстракция РНК из исследуемого материала

Использование набора подразумевает работу с готовыми образцами РНК, выделенными из клинического материала. В состав набора не входят реагенты для выделения РНК. Для выделения РНК из клинических образцов рекомендуется использовать наборы реагентов, предназначенные для выделения ДНК/РНК (см. раздел Требуемое дополнительное оборудование и материалы).

В зоне №2 проводят экстракцию РНК» согласно инструкции производителя набора для выделения РНК. Экстракция РНК из каждого исследуемого образца, включая ПКО nOPV-2 и ОКО, проводится в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО) в объеме 10 мкл. В качестве положительного контроля обратной транскрипции РНК используется 100 мкл ПКО nOPV-2. В качестве отрицательного контроля обратной транскрипции используется 100 мкл ОКО.

Полученные образцы РНК могут храниться в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.

6.5 Подготовка образцов к постановке ОТ-ПЦР

В зоне №2 разморозить при комнатной температуре следующие компоненты набора: Amp 1В, Amp 1RT, Amp 2 nOPV-2, К+ nOPV-2, К-.

Содержимое пробирок тщательно перемешать четырёхкратным переворачиванием, затем встряхиванием на вортексе, не допуская образования пены, затем осадить капли центрифугированием на микроцентрифуге в течение 5 с.

Рассчитать необходимый объем компонентов для общей реакционной смеси, исходя из количества исследуемых образцов, учитывая необходимость постановки положительных и отрицательных контролей реакции К+ nOPV-2, К-, ОКО и ПКО nOPV-2 (таблица 3).

Таблица 3 – Компоненты реакционной смеси

Компонент	Объем на одну реакцию
Реактив Amp 1RT	1,0 мкл
Реактив Amp 1В	12,5 мкл
Реактив Amp 2 nOPV-2	1,5 мкл

Приготовить общую реакционную смесь.

Тщательно перемешать общую реакционную смесь встряхиванием на вортексе, осадить капли со стенок пробирок в микроцентрифуге в течение 5 с.

Перенести пробирку с общей реакционной смесью в зону № 3.

Подготовить пробирки/стрипы/планшет для ПЦР (в зависимости от числа проб и типа амплификатора), установить в штатив. На пробирки не наносят надписи, чтобы исключить влияние на флуоресценцию.

Внести по 15 мкл общей реакционной смеси во все пробирки для ПЦР в соответствии с числом исследуемых проб.

В зоне № 3 подготовить контрольные и исследуемые образцы РНК. После размораживания контрольные и исследуемые образцы центрифугировать в микроцентрифуге в течение 5 с для осаждения капель со стенок и крышки.

Добавить по 10 мкл ОКО в пробирки для ПЦР, соответствующие отрицательным контрольным образцам этапа выделения РНК.

Добавить по 10 мкл К- в пробирки для ПЦР, соответствующие отрицательным контрольным образцам ОТ-ПЦР.

Добавить по 10 мкл раствора РНК исследуемых образцов в соответствующие пробирки для ПЦР.

Добавить по 10 мкл К+ nOPV-2 в пробирки для ПЦР, соответствующие положительным контрольным образцам этапа ОТ-ПЦР.

Добавить по 10 мкл ПКО nOPV-2 в пробирки для ПЦР, соответствующие положительным контрольным образцам этапа обратной транскрипции РНК.

Закрыть крышки пробирок для ПЦР, осадить капли в пробирках центрифугированием в микроцентрифуге в течение 10 с.

Установить пробирки для ПЦР в блок амплификатора.

Далее пользователю следует принять решение, какой вид анализа необходим: стандартный или ускоренный экспресс-анализ. Длительность экспресс-анализа меньше чем стандартного, он может применяться при ограничениях времени на получение результатов. Во всех остальных случаях рекомендуется использовать стандартный анализ.

6.6 Работа с программным обеспечением амплификатора

Запустить программное обеспечение (ПО) амплификатора. Открыть созданный ранее шаблон протокола в ПО. Ввести через интерфейс ПО необходимые параметры, которые зависят от типа амплификатора (см. таблицу 4 и далее) и программы амплификации кДНК по таблице 5 при проведении стандартного анализа или по таблице 6 при проведении ускоренного экспресс-анализа. Далее создать разметку в соответствии с установленными в блок амплификатора пробирками, выбрать каналы детекции FAM/Green и HEX/Yellow, запустить программу амплификации.

Таблица 4 – Параметры для анализа результатов при использовании приборов роторного типа

Канал	Calibrate/Gain Optimisation/ Оптимизация уровня сигнала	Threshold/Порог	More Settings/ Outlier Removal/	Slope Correct/ Коррект. уклона
-------	--	-----------------	--	---

			Устранение выбросов	
FAM	0,1	0,05	10 %	включена
JOE/HEX	0,1	0,05	10 %	включена

Примечание. Для приборов роторного типа в случае, если кривые флуоресценции по каналу FAM/Green не соответствуют экспоненциальному росту (не имеют S-образный вид), допускается увеличение значения порога отрицательных проб (NTC threshold /Порог Фона – ПФ) до 20 %.

При использовании приборов планшетного типа (например, C1000 Touch, LightCycler 96, Mx 3000P) необходимо использовать автоматические настройки приборов.

Таблица 5 – Программа амплификации кДНК (стандартный анализ)

Температура, °С	Время	Количество циклов
50	15 мин	1
95	5 мин	1
95	10 с	40
57	20 с*	

Примечание: *детекция флуоресцентного сигнала

Таблица 6 – Программа амплификации кДНК (ускоренный экспресс-анализ)

Температура, °С	Время	Количество циклов
50	15 мин	1
95	3 мин	1
95	10 с	10
60	20 с	
95	10 с	28
60	20 с *	

Примечание: * детекция флуоресцентного сигнала

6.7 Регистрация результатов

Детекция продуктов амплификации проводится в режиме реального времени с использованием детектирующего ПЦР-амплификатора согласно инструкции к прибору. По каналу FAM/Green регистрируется сигнал о накоплении продукта ПЦР фрагмента кДНК ВКО, по каналу HEX/Yellow регистрируется накопление целевого фрагмента кДНК штамма nOPV2.

6.8 Анализ данных ПЦР

Первичную обработку данных проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме реального времени.

При первичной обработке анализируют графики накопления ДНК по сигналу флуоресценции относительно циклов ПЦР. Определяют значение флуоресценции, которое превышает порог фона и соответствует началу участка экспоненциального накопления продукта ПЦР с каждым новым циклом. Далее определяют, все ли кривые сигнала флуоресценции относительно цикла ПЦР имеют следующие свойства:

– график нарастания флуоресценции имеет форму экспоненциальной кривой;

– кривая флуоресценции по каналу пересекает пороговую линию на участке экспоненциального роста.

Для кривых, удовлетворяющих этим критериям, определяют пороговый цикл C_t – цикл ПЦР, при котором флуоресценция по данному каналу для данного образца достигла порогового значения флуоресценции.

6.9 Интерпретация результатов ОТ-ПЦР

При интерпретации результатов отслеживают два параметра: значение порогового цикла C_t по каналу FAM, как свидетельство достоверности выделения РНК из ВКО, вносимого в пробу с ПКО nOPV-2 и ОКО, и значение порогового цикла C_t по каналу HEX, как свидетельство достоверности обратной транскрипции и амплификации кДНК в пробе с ПКО nOPV-2 и ПЦР в пробе с К+ nOPV-2.

Результат испытания считают не соответствующим критериям приемлемости, если:

– во время прохождения реакции не регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM и/или JOE/HEX в пробирке с К+ nOPV-2, или полученные значения порогового цикла C_t для одного или обоих каналов не соответствуют диапазонам, указанным для К+ nOPV-2 в таблицах 7 или 8 (в зависимости от типа анализа); в данной ситуации необходимо повторное испытание всех образцов, начиная с момента постановки ОТ-ПЦР;

– во время прохождения реакции не регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM и/или JOE/HEX в пробирке с ПКО nOPV-2, или полученные значения порогового цикла C_t не соответствуют диапазонам, указанным в таблицах 7 или 8 (в зависимости от типа анализа); для ПКО nOPV-2; в данной ситуации необходимо повторное исследование всех образцов, начиная с выделения РНК;

– в пробирке с К- регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по одному из каналов, либо по всем каналам флуоресценции; в данной ситуации необходимо принятие мер для устранения контаминации в ПЦР-лаборатории и повторное исследование всех образцов начиная с этапа ОТ-ПЦР;

– в пробирке с ОКО регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу JOE/HEX; в данной ситуации необходимо принятие мер для устранения контаминации в ПЦР-лаборатории и повторное исследование всех образцов, начиная с выделения РНК;

– в пробирках с ПКО nOPV-2 и ОКО не регистрируется сигнал по каналу FAM, соответствующему ВКО; в данной ситуации необходимо повторное исследование, начиная с выделения РНК.

Результаты испытания считают соответствующим критериям приемлемости, если:

– во время прохождения амплификации регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналам FAM и JOE/HEX в пробирках с ПКО nOPV-2 и K+ nOPV-2;

– если во время прохождения амплификации отсутствует флуоресцентный сигнал по каналам FAM и JOE/HEX в пробирке с K-;

– если во время прохождения реакции регистрируется экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM в пробирках с ОКО, и полученные значения порогового цикла Ct соответствуют диапазону, указанному в таблицах 7 или 9 (в зависимости от типа анализа).

Таблица 7 – Значения порогового цикла ПЦР (Ct) контрольных образцов (стандартный анализ)

Образец	Канал детекции FAM/Green		Канал детекции HEX/Yellow	
	Прибор роторного типа	Прибор планшетного типа	Прибор роторного типа	Прибор планшетного типа
ПКО nOPV-2	≤ 35	≤ 35	≤ 33	≤ 33
ОКО	≤ 35	≤ 35	Не определяется	Не определяется
K+ nOPV-2	≤ 28	≤ 28	≤ 26	≤ 26
K-	Не определяется	Не определяется	Не определяется	Не определяется

Таблица 8 – Интерпретация результатов ПЦР-исследования (стандартный анализ)

Анализируемый параметр	Пороговый цикл ПЦР (Ct)	
	Канал FAM/Green	Канал HEX/Yellow
Образец положителен на наличие РНК вакцинного штамма nOPV2	≤ 35	≤ 37
Образец отрицателен на наличие вакцинного штамма nOPV2	≤ 35	Не определяется
Результат сомнительный	>35	>37

При соблюдении требований перечисленных пунктов заключение о наличии либо отсутствии в анализируемом клиническом образце штамма nOPV2 делается в соответствии с таблицей 8 (стандартный анализ). В случае необходимости проведения ускоренного анализа в соответствии с таблицей 10.

Таблица 9 – Значения порогового цикла ПЦР (Ct) контрольных образцов (ускоренный экспресс-анализ)

Образец	Канал детекции FAM/Green		Канал детекции HEX/Yellow	
	Прибор роторного типа	Прибор планшетного типа	Прибор роторного типа	Прибор планшетного типа
ПКО nOPV-2	≤ 25	≤ 25	≤ 23	≤ 23
ОКО	≤ 25	≤ 25	Не определяется	Не определяется
К+ nOPV-2	≤ 18	≤ 18	≤ 16	≤ 16
К-	Не определяется	Не определяется	Не определяется	Не определяется

При необходимости учета фактического значения порогового цикла при экспресс-программе к определенному автоматически значению Ct необходимо прибавить 10 циклов.

Таблица 10 – Интерпретация результатов ПЦР-исследования (ускоренный экспресс-анализ)

Анализируемый параметр	Пороговый цикл ПЦР (Ct)	
	Канал FAM/Green	Канал HEX/Yellow
Образец положителен на наличие РНК вакцинного штамма nOPV2	≤ 25	≤ 27
Образец отрицателен на наличие вакцинного штамма nOPV2	≤ 25	не определяется
Результат сомнительный	>25 или не определяется	>27 или не определяется

Работая по экспресс-программе, при необходимости учета значения порогового цикла включая циклы проводившиеся без детекции сигнала, к определенному автоматически значению Ct необходимо прибавить 10 циклов. С таблицами 9 и 10 следует работать используя автоматически определенные значения Ct.

6.10 Действия при сомнительном результате

При значениях Ct, интерпретируемым согласно указаниям в таблице 8, как «результат сомнительный», следует провести повторный анализ с образцом, начиная с этапа выделения РНК. При невозможности повторного выделения РНК следует провести повторный анализ, начиная с этапа ПЦР. При повторном сомнительном или отрицательном результате его следует интерпретировать как отрицательный. При положительном результате повторного анализа его следует интерпретировать как положительный.

ВНИМАНИЕ!

Отрицательные результаты не исключают возможность наличия вакцинного штамма в образце nOPV2 и не должны использоваться в качестве

единственной основы для принятия медицинских решений. Результаты должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор реагентов nOPV-2 Amp PS не определяет наличие вакцинного штамма nOPV2, если концентрация целевой РНК менее 1000 копий/мл РНК нового модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 для термоциклеров планшетного типа и менее 10000 копий/мл РНК штамма nOPV2 на 1 мл анализируемого образца для термоциклеров роторного типа.

7. Условия транспортирования и хранения МИ

7.1 Транспортирование

Транспортировать Набор реагентов следует всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8 °С в течение не более 5 суток. Замораживание набора при транспортировании не допускается.

Транспортирование наборов реагентов должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

Набор реагентов, транспортировавшийся с нарушением температурного режима, использовать запрещается; он подлежит утилизации согласно указаниям раздела 8 как пришедший в негодность.

7.2 Хранение

Компоненты набора реагентов до вскрытия и после вскрытия должны храниться в упаковке предприятия-изготовителя набора в течение всего срока годности в соответствии со следующими температурными режимами:

Бокс № 1 с компонентами (Реактив Amp 1RT, Реактив Amp 1B, Реактив Amp 2 nOPV-2, К+ nOPV-2, К-) должен храниться при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С.

Для компонентов Реактив Amp 1RT и Реактив Amp 1B допускается не более 30 циклов замораживания-размораживания, для Реактива Amp 2 nOPV-2 и К+ nOPV-2 не более 4 циклов.

Бокс № 2 с компонентами (ПКО nOPV-2, ВКО, ОКО) должен храниться при температуре от 2 °С до 8 °С. Холодильники и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим. Холодильники и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

МИ, хранившиеся с нарушением температурного режима, использовать запрещается, их необходимо утилизировать как пришедшие в негодность в соответствии с указаниями по утилизации.

8. Указания по безопасной утилизации

Медицинские изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

Класс опасности отходов при применении Набора реагентов с потенциально инфицированными пробами – В (эпидемиологически опасные).

Работа по обращению с медицинскими отходами класса В организуется в соответствии с требованиями к работе с возбудителями 1–2 групп патогенности, установленными в санитарно-эпидемиологических требованиях по профилактике инфекционных и паразитарных болезней, а также к организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, в частности, в соответствии с требованиями СанПиН 3.3684-21.

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, забракованные, следует утилизировать следующим способом: жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются раздавливанием внутренней упаковки с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор. Твердые компоненты подлежат дроблению, последующему разведению водой в соотношении 1:100, сливом раствора в промышленную канализацию и вывозом остатков упаковок как производственного или бытового мусора.

Наборы реагентов, контактировавшие с потенциально инфицированным материалом, перед утилизацией должны быть обеззаражены в соответствии с требованиями СанПиН 3.3684-21.

9. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов в течение установленного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Срок годности набора – 12 месяцев от даты изготовления.

10. Ремонт и техническое обслуживание

Набор реагентов предназначен для дробного однократного использования. Не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

11. Объяснение используемых символов

Таблица 11 – Объяснение символов и знаков, которые могут использоваться в маркировке

Символ или манипуляционный знак	Название символа или манипуляционного знака	Значение символа или манипуляционного знака
	Изготовитель	Рядом с символом указаны наименование и адрес изготовителя медицинского изделия
	Дата изготовления	Рядом с символом указана дата изготовления медицинского изделия
	Использовать до, срок годности	Рядом с символом указана дата, после которой медицинское

Символ или манипуляционный знак	Название символа или манипуляционного знака	Значение символа или манипуляционного знака
		изделие не должно применяться
	Код партии	Рядом с символом указан код партии медицинского изделия, установленный производителем
	Предел температуры	Рядом с верхними и нижними горизонтальными линиями указаны границы температурного диапазона, в пределах которого медицинское изделие может надежно сохраняться. Диапазон температур, при которых следует хранить груз или манипулировать им.
	Обратитесь к инструкции по применению	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению
	Медицинское изделие для диагностики in vitro	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики in vitro
	Содержимого достаточно для проведения n тестов	Рядом с символом указано количество тестов, которые могут быть выполнены с использованием медицинского изделия
	Специальный знак обращения медицинских изделий	Знак обращения свидетельствует о том, что медицинское

Символ или манипуляционный знак	Название символа или манипуляционного знака	Значение символа или манипуляционного знака
	на рынке Евразийского экономического союза	изделие, маркированное им, прошло установленную в рамках Союза процедуру регистрации и подтверждения соответствия общим требованиям безопасности и эффективности медицинских изделий и требованиям к внедрению и поддержанию системы менеджмента качества медицинских изделий
	Не допускать воздействия солнечного света на медицинское изделие. Беречь от солнечных лучей.	Указывает, что медицинское изделие необходимо защищать от воздействия солнечного света и держать вдали от источников тепла. Груз следует защищать от солнечных лучей
	Беречь от влаги. Необходимость защиты груза от воздействия влаги.	Указывает, что медицинское изделие необходимо защищать от воздействия влаги. Необходимость защиты груза от воздействия влаги.

12. Контактная информация для обращений

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для выявления РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени (nOPV-2 Amp PS), следует обращаться к предприятию-изготовителю ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера по адресу: 197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, телефон: +7 (812) 233-20-92, факс: +7 (812) 644-63-10, электронный адрес: pasteur@pasteurorg.ru, официальный веб-сайт <https://pasteurorg.ru>.

13. Информация о пересмотре настоящей Инструкции.

Настоящая инструкция составлена впервые. Дата утверждения указана на титульном листе настоящей инструкции. Пересмотр инструкции проводится на производстве ежегодно при отсутствии изменений, а также дополнительно по мере необходимости внесения изменений (согласно ГОСТ ISO 13485-2017). В случае внесения изменений в эксплуатационную документацию инициируется соответствующая процедура информирования об этом уполномоченного государственного органа и после этого об изменениях информируются пользователи. В случае отсутствия изменений действие данной версии документа продлевается автоматически без уведомлений об этом пользователей и уполномоченных органов.

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА
№ 002 от 01.09.2023 г.

Наименование **Набор реагентов для выявления РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени (nOPV-2 Amp PS)**

Нормативная документация РУ
ТУ 21.20.23-039-01967164-2023
Номер серии: **002**
Дата производства 09.2023
Годеи до 09.2024
Объем серии 10 шт.

Комплектность, упаковка и маркировка соответствует требованиям нормативной документации

1. Внешний вид, комплектность

Наименование компонентов	Требования ТУ 21.20.23-039-01967164-2023	Результат контроля
Бокс № 1:		
Реактив Amp 1RT	Прозрачная или слабо опалесцирующая слабвязкая бесцветная жидкость объемом 0,10 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
Реактив Amp 1B	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 1,25 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
Реактив Amp 2 nOPV-2	Прозрачная розоватая жидкость объемом 0,15 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
К+ nOPV-2 (положительный контроль ПЦР)	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 0,10 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
К- (отрицательный контроль ПЦР)	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 0,45 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
Бокс № 2:		
ПКО nOPV-2 (положительный контрольный образец для контроля обратной транскрипции)	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 1,00 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
ОКО (отрицательный контрольный образец для контроля обратной транскрипции)	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 0,45 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
ВКО (внутренний контрольный образец для контроля выделения РНК)	Прозрачная бесцветная жидкость объемом 1,00 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой	Соответствует
Сопроводительная эксплуатационная документация:		
Инструкция по применению	1 шт.	Соответствует
Копия паспорта качества	1 шт.	Соответствует

--	--	--

2. Функциональные показатели:

Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот планшетного типа C1000 Touch с оптическим модулем CFX96. Стандартный анализ.

Образец	Канал детекции FAM		Канал детекции JOE/HEX	
	Прибор планшетного типа		Прибор планшетного типа	
	Норма по НД	Результат	Норма по НД	Результат
ОКО	≤35	Соответствует	N/A	Соответствует
ПКО nOPV-2	≤35	Соответствует	≤33	Соответствует
К+ nOPV-2	≤28	Соответствует	≤26	Соответствует
К-	N/A	Соответствует	N/A	Соответствует

Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот роторного типа – Rotor-Gene Q. Экспресс-анализ.

Образец	Канал детекции FAM		Канал детекции JOE/HEX	
	Прибор роторного типа		Прибор роторного типа	
	Норма по НД	Результат	Норма по НД	Результат
ОКО	≤25	Соответствует	N/A	Соответствует
ПКО nOPV-2	≤25	Соответствует	≤23	Соответствует
К+ nOPV-2	≤18	Соответствует	≤16	Соответствует
К-	N/A	Соответствует	N/A	Соответствует

Хранение:

Компоненты набора реагентов до вскрытия и после вскрытия должны храниться в упаковке предприятия- производителя набора в течение всего срока годности в соответствии со следующими температурными режимами:

– компоненты Реактив Amp 1RT, Реактив Amp 1B, Реактив Amp 2 nOPV-2, К+ nOPV-2, К- должны храниться при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С, при этом для компонентов Реактив Amp 1RT и Реактив Amp 1B допускается не более 30 циклов замораживания-размораживания, для Реактива Amp 2 nOPV-2 и К+ не более 4 циклов;

– компоненты ПКО nOPV-2, ВКО, ОКО должны храниться при температуре от 2 °С до 8 °С.

Холодильники и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

МИ, хранившиеся с нарушением температурного режима, использовать запрещается.

Транспортирование:

Всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С в течение не более 5 суток.

Транспортирование наборов реагентов должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

Заключение: Набор реагентов для выявления РНК модифицированного вакцинного штамма вируса полиомиелита типа 2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени (nOPV-2 Amp PS) серия 002 соответствует требованиям нормативной документации.

Начальник службы качества



Т. В. Швецова