



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ТестГен»
А. Н. Тороповский
«26» августа 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**Набор реагентов для качественного выявления ДНК
Staphylococcus aureus методом мультиплексной
петлевой изотермальной амплификации (LAMP)
с флуоресцентной детекцией в режиме реального
времени «LAMP-STAPH-test»
по ТУ 21.20.23-052-97638376-2021**

Содержание

Список сокращений	2
Введение	4
1. Назначение	7
2. Принцип метода	8
3. Состав набора реагентов	10
4. Характеристики набора реагентов	12
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов	17
6. Меры предосторожности при работе с набором	17
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов	20
8. Анализируемые образцы	21
9. Подготовка компонентов набора для исследования	26
10. Проведение анализа	27
11. Регистрация и интерпретация результатов	30
Рекомендации по установке пороговой линии	31
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов	34
13. Утилизация	35
14. Гарантийные обязательства, контакты	36
Приложение А	37

Список сокращений

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	полимеразная цепная реакция
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ВКО	внутренний контрольный образец
КОС	контрольный образец специфичности
КОЧ	контрольный образец чувствительности

Введение

Целевой анализ: специфичный участок геномной ДНК золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*).

Научная обоснованность целевого анализа заключается в специфичности целевого анализа (уникальности последовательности ДНК) в отношении генома *Staphylococcus aureus*.

В качестве мишени для выявления ДНК *Staphylococcus aureus* используется высококонсервативный фрагмент гена *NUC*.

Золотистый стафилококк — это самый опасный из всех распространенных стафилококков. Стафилококковые инфекции могут носить характер эндогенной инфекции (повреждение органов и тканей с проникновением возбудителя) или экзогенный характер, обусловленный различными путями заражения – алиментарным (при стафилококковых отравлениях), контактно-бытовым, воздушно-капельным и воздушно-пылевым. Существенное значение имеет носительство патогенных стафилококков, чаще всего – на слизистой носа и зева, на втором месте – кожа, толстый кишечник и слизистые оболочки мочеполового тракта.

В условиях медицинских учреждений (родильные дома, хирургические стационары) и в закрытых коллективах особую опасность представляют резидентные (постоянные) носители, у которых наблюдается колонизация слизистых носа и зева, и длительная персистенция стафилококков.

Инфекции, вызываемые золотистым стафилококком, включают около 100 нозологических форм. Стафилококковые инфекции можно разделить на локальные и системные (генерализованные). Среди первых – фурункулы, панариции, мастит, гнойные осложнения раневых поверхностей. Среди вторых – сепсис, стафилококковые пневмонии, осложнения после родов и операций, приводящих к синдрому токсического шока, остеомиелиты и др.

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика инфекционных заболеваний.

Показания к применению: набор реагентов «LAMP-STARH-test» рекомендуется к применению в клинической лабораторной диагностике для исследования клинического материала (мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови, пунктатов из очагов поражения

органов и тканей), объектов окружающей среды (смывы с медицинского оборудования и инструментария) у пациентов с клинической симптоматикой заболевания, подозрительного на инфекцию, вызванную *Staphylococcus aureus*.

Противопоказания к применению: при использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению не выявлены.

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия: популяционных, демографических аспектов применения набора реагентов «LAMP-STAPH-test» не выявлено.

Стерильность: изделие нестерильно.

1. Назначение

Назначение: набор реагентов «LAMP-STAPH-test» предназначен для качественного выявления специфичных участков геномной ДНК золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) методом мультиплексной петлевой изотермальной амплификации (LAMP) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени в пробе ДНК, выделенной из клинического материала (мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови, пунктатов из очагов поражения органов и тканей), а также нативных мазках и смывах, не прошедших этап выделения (мазки из ротоглотки, смывы с медицинского оборудования и инструментария), для установления инфицирования *Staphylococcus aureus*^{1,2} пациентов с клинической симптоматикой заболевания всех групп населения вне зависимости от формы и стадии заболевания, а также предотвращения распространения госпитальной инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus*.

Функциональное назначение: полученные результаты могут использоваться для ранней диагностики инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus*, у пациентов вне зависимости от формы и стадии заболевания всех групп населения. Результаты учитываются в комплексной диагностике заболевания.

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях. Профессиональный уровень потенциальных

1 В соответствии с клиническими рекомендациями «Наружный отит», утв. 2021, Возрастная категория: Дети (Разработчик клинической рекомендации: Союз педиатров России, Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, Одобрено Научно-практическим Советом Минздрава РФ):

К наиболее распространенным бактериальным патогенам оказывающим влияние на возникновение воспалительного процесса наружного уха у детей относят: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. vulgaris* и *E. coli*. [9]. Лидирующие позиции среди перечисленных патогенов занимает синегнойная палочка и золотистый стафилококк. При этом, частота выделения штамма *Pseudomonas aeruginosa* может достигать от 20 до 60%, а штамма *Staphylococcus aureus* от 10 до 70% [10, 11].

2 В соответствии с Клиническими рекомендациями «Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств», утв. 2021, Возрастная категория: взрослые, Разработчик клинической рекомендации - Общероссийская общественная организация Российское кардиологическое общество, Ассоциация сердечно-сосудистых хирургов России, Общероссийская общественная организация Российское научное медицинское общество терапевтов, Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, Российское общество ядерной медицины, Всероссийское научное общество специалистов по клинической электрофизиологии, аритмологии и электростимуляции).

Типичными возбудителями ИЭ являются грамположительные кокки: стафилококки *S. aureus*, CoNS (27,1%-67,9%).

пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

2. Принцип метода

Метод

Петлевая изотермальная амплификация (LAMP), в основе данной методики лежит реакция синтеза нуклеиновых кислот с вытеснением цепи, катализируемая ДНК-полимеразой, выделенной из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus*. Отличительными особенностями петлевой изотермальной амплификации является проведение реакции при постоянной температуре 65 °С и быстрое накопление продуктов реакции (в течение 35 - 40 мин.) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Тип анализируемого образца

Образцы ДНК, выделенные из клинического материала (мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови, пунктатов из очагов поражения органов и тканей), а также нативные мазки и смывы, не прошедшие этап выделения (мазки из ротоглотки, смывы с медицинского оборудования и инструментария).

В состав набора входит буфер, обеспечивающий лизис бактериальных клеток и устойчивость к ингибиторам, в связи с этим возможно проведение анализа на нативных мазках и смывах, не прошедших этап выделения ДНК (мазки из ротоглотки, смывы с медицинского оборудования и инструментария).

Принцип определения

Качественное выявление ДНК *Staphylococcus aureus* основано на использовании метода мультиплексной петлевой изотермальной амплификации (LAMP) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

В состав Буфера-1 входят олигонуклеотиды, дезоксинуклеотидтрифосфаты и оптимизированный буфер. Олигонуклеотиды комплементарны выявляемой мишени – фрагменту гена *NUC Staphylococcus aureus* и ВКО.

В составе Буфера-2 присутствуют ферменты и оптимизированный буфер.

Инактивация бактерий золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) производится в реакционной смеси в присутствии детергента, содержащегося в составе реакционной смеси, и инкубации при температуре 65°C.

Набор содержит реагенты для качественного определения ДНК золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) и фрагмента ДНК внутреннего контрольного образца (далее ВКО): продукты амплификации фрагмента ДНК *Staphylococcus aureus* регистрируются по каналу, соответствующему флуорофору FAM/Green, продукты амплификации ВКО – по ROX/Orange (табл. 1).

Таблица 1 – Анализируемые мишени

Канал, соответствующий флуорофору	
FAM / Green	ROX/Orange
ДНК золотистого стафилококка (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ВКО

ВКО позволяет оценить возможное наличие ингибиторов в пробе, присутствие которых может привести к ложноотрицательным результатам.

Ограничения метода

Возможные причины получения ложноположительного результата - контаминация на этапе выделения ДНК или проведения реакции ПЦР. Ложноположительный результат может быть выявлен с помощью отрицательного контрольного образца.

Набор реагентов по истечении срока годности применению не подлежит.

Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка, или внешний вид реагента не соответствует описанию.

Набор реагентов, транспортированный или хранившийся с нарушением температурного режима, применению не подлежит.

Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах исследования с использованием данного набора реагентов. В диагностических целях результаты должны использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей

клинической картиной, результатами исследования другими тест-системами, эффективностью применяемой терапией.

Общее время проведения анализа составляет 35–40 минут в зависимости от используемой модели амплификатора (без учета пробоподготовки).

3. Состав набора реагентов

Форма комплектации

Набор реагентов «LAMP-STAPH-test» выпускается в 1 форме комплектации – «LAMP-STAPH-test».

Количество анализируемых проб

Набор реагентов «LAMP-STAPH-test», рассчитан на 96 реакций, что соответствует:

- 94 исследуемым образцам с отрицательными и положительными контрольными образцами при одновременной постановке;

- 32 единичным постановкам исследуемых образцов с отрицательными и положительными контрольными образцами в каждой постановке.

Состав набора реагентов

Таблица 2 – Состав набора реагентов «LAMP-STAPH-test»

№ п/п	Название реагента	Описание	Количество, объём
1.	Буфер-1	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок голубого цвета	2 пробирки, по 900 мкл
2.	Буфер-2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 100 мкл
3.	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 250 мкл
4.	ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 1000 мкл
5.	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки, по 1700 мкл

Примечание: Эксплуатационная документация (инструкция по применению и паспорт качества) не входит в состав изделия, но входит в комплект поставки изделия. Набор реагентов для обеспечения соблюдения условий

транспортирования помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Термоконтейнер вкладывается в коробку из картона, туда же помещается инструкция по применению и паспорт качества на каждую поставляемую партию изделия.

Буфер-1 содержит олигонуклеотиды, дезоксинуклеотидтрифосфаты и оптимизированный буфер.

Буфер-2 содержит ферменты и оптимизированный буфер.

ПКО готов к использованию и представляет собой смесь плазмид в разных концентрациях с синтетической вставкой амплифицируемого фрагмента ДНК золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) и ВКО в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) с добавлением 0,05% азида натрия.

ВКО готов к использованию и представляет собой плазмидную ДНК с концентрацией $5,0 \cdot 10^5$ копий/мл в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) с добавлением 0,05% азида натрия.

ОКО готов к использованию и представляет собой деионизованную воду, свободную от РНКаз и ДНКаз.

В составе набора отсутствуют лекарственные средства для медицинского применения, вещества человеческого или животного происхождения.

4. Характеристики набора реагентов

4.1 Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Набор реагентов «LAMP-STARH-test»

Наименование показателя	Характеристики и нормы	Пункт ТУ
1. Технические характеристики		
Внешний вид		
Буфер-1	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок голубого цвета	Раздел 7, пункт 7.6
Буфер-2	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
1.2. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-052-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
1.3. Маркировка	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-052-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
1.4. Упаковка	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-052-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
2. Функциональные характеристики		
2.1. Положительный результат с ПКО	Значения Ct по каналу FAM/Green и ROX/Orange не более 25 цикла.	Раздел 7, пункт 7.7.3.1
2.2. Отрицательный результат с ОКО+ВКО	График накопления флуоресценции по каналу ROX/Orange Ct≤25; реакция по каналу FAM/Green отсутствует.	Раздел 7, пункт 7.7.3.2
2.3. Прохождение реакции в пробирках с КОС+ВКО	График накопления флуоресценции по каналу FAM/Green отсутствует; по каналу ROX/Orange Ct ≤25.	Раздел 7, пункт 7.7.3.3
2.4. Прохождение реакции в пробирках с КОЧ1+ВКО	В пробирках с КОЧ1 по каналу FAM/Green во всех повторях (не менее 2) Ct≤35 и при значении стандартного отклонения в повторях КОЧ не более 5%, по каналу ROX/Orange Ct≤25.	Раздел 7, пункт 7.7.3.4
2.5. Прохождение реакции в пробирках с КОЧ2+ВКО	В пробирках с КОЧ2 по каналу FAM/Green во всех повторях (не менее 2) Ct≤35 и при значении стандартного отклонения в повторях КОЧ не более 5%, по каналу ROX/Orange Ct≤25.	Раздел 7, пункт 7.7.3.4

В случае неисправности медицинского изделия, отклонений в его функционировании, которые могут влиять на безопасность, изменений аналитических характеристик изделия незамедлительно прекратить применение медицинского изделия и сообщить производителю (см. раздел 14 Инструкции).

4.2 Характеристики аналитической эффективности

4.2.1 Аналитическая специфичность

Специфичен по отношению к ДНК *Staphylococcus aureus*.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце геномной ДНК следующих организмов: человек (в концентрации до 10^9 копий/мл образца), *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simplex virus*, *Cytomegalovirus*, *M. tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella* sp., *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Corynebacterium diphtheriae*.

4.2.2 Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Не менее $2,5 \cdot 10^3$ копий ДНК *Staphylococcus aureus* на 1 мл клинического материала при использовании выделения ДНК из 100 мкл и элюции объёмом 50 мкл, для других объёмов значение чувствительности изменяется пропорционально.

Не менее $2,5 \cdot 10^4$ копий ДНК *Staphylococcus aureus* на 1 мл клинического материала без использования процедуры выделения.

4.2.3 Прецизионность в условиях повторяемости

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости положительный контрольный образец и контрольные образцы чувствительности КОЧ1 и КОЧ2 были исследованы по двум каналам флуоресценции (FAM/Green, ROX/Orange) по 10 повторов.

Данные по повторяемости получают внутри лаборатории для конкретного оборудования и внутри конкретной партии набора реагентов.

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости рассчитывают среднее арифметическое выборки, дисперсию, среднеквадратическое отклонение и коэффициент вариации по полученным значениям в повторах контрольных образцов.

Результаты исследования показали, что коэффициент вариации набора в условиях повторяемости составляет не более 3%.

4.2.4 Прецизионность в условиях воспроизводимости

Оценку воспроизводимости тест-системы проводят аналогично расчёту прецизионности в условиях повторяемости (раздел 4.2.3), однако для тестирования используют различные партии набора реагентов, реакции ставят в разных лабораториях, разные операторы, в разные дни, на разных ПЦР-амплификаторах (Блок воспроизводимости 1, Блок воспроизводимости 2, Блок воспроизводимости 3, Блок воспроизводимости 4).

Результаты исследования показали, что коэффициент вариации набора в условиях воспроизводимости составляет не более 5%.

4.3. Характеристики клинической эффективности

Для проведения клинических испытаний всего использовалось **323 клинических образца** (мазки из ротоглотки, моча, мокрота, кровь, пунктат из очагов поражения органов и тканей), а также нативные мазки и смывы, не прошедшие этап выделения (мазки из ротоглотки, смывы с медицинского оборудования и инструментария) от пациентов с подозрением на инфекцию, вызванную *Staphylococcus aureus*, выбранных из банка образцов остаточных аликвот, сформированного в процессе рутинной лечебно-диагностической практики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, достаточных по объемам и удовлетворяющих параметрам программы клинических испытаний.

Для оценки **перекрестной реактивности** в клинических испытаниях испытуемым набором реагентов «LAMP-STAPH-test» ТУ 21.20.23-052-97638376-2021 исследованы **42 образца**, не содержащих исследуемый аналит, но с подтвержденным положительным наличием микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simplex virus*, *Cytomegalovirus*, *M. tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella sp.*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*,

Mycoplasma pneumoniae, *Legionella pneumophila*, *Corynebacterium diphtheriae*. Образцы выбраны из банка образцов остаточных аликвот, сформированного в процессе рутинной лечебно-диагностической практики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, достаточных по объемам и удовлетворяющих параметрам программы клинических испытаний.

Для проведения ПЦР-исследования использовать амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США);
- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия);
- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США).

Для оценки межсерийной сходимости исследования клинических образцов необходимо провести исследуемым медицинским изделием в двух сериях.

Выделение ДНК из всех клинических образцов осуществлялось с помощью следующих наборов реагентов:

- для выделения НК из мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови использовался Набор реагентов для выделения ДНК/РНК «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019 производства ООО «ТестГен», Россия (регистрационное удостоверение: РЗН 2021/15428 от 24.09.2021);

- для экстракции НК из пунктатов из очагов поражения органов и тканей использовался Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" по ТУ 9398-106-01897593-2012, производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № ФСР 2010/07265 от 21.03.2022).

4.3.1. Результаты изучения диагностических характеристик по образцам клинического материала

Вид исследуемого материала	Количество наблюдений с положительными пробами	Количество наблюдений с отрицательным и пробами	Диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95 %	Диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95 %
Мазки из ротоглотки	72	28	100% (95% ДИ: 94,9%-100%)	100% (95% ДИ: 87,9%-100%)
Моча	50	40	100% (95% ДИ: 92,8%-100%)	100% (95% ДИ: 91,2%-100%)
Кровь	38	46	100% (95% ДИ: 90,8%-100%)	100% (95% ДИ: 92,2%-100%)
Мокрота	52	38	100% (95% ДИ: 93,1%-100%)	100% (95% ДИ: 90,8%-100%)
Пунктат из очагов поражения органов и тканей	48	34	100% (95% ДИ: 92,5%-100%)	100% (95% ДИ: 89,8%-100%)
Мазки из ротоглотки (нативный мазок)	72	28	100% (95% ДИ: 94,9%-100%)	100% (95% ДИ: 87,9%-100%)
Смывы	60	40	100% (95% ДИ: 93,9%-100%)	100% (95% ДИ: 91,2%-100%)

5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов

В пограничную зону риска вошли опасности:

1. Потеря функциональных свойств реагентов, входящих в набор, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях;

2. Загрязнение клинического материала ингибирующими веществами в концентрациях, превышающих допустимые;

3. Контаминация реакционных смесей и образцов исследуемой ДНК содержимым из пробирки ПКО или продуктами амплификации;

4. Проведение анализа с использованием пробы ДНК низкого качества (низкая концентрация и/или плохая очистка);

5. Невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации вследствие работы с набором неквалифицированного персонала;

6. Использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия «LAMP-STAPH-test» является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

Все составные части и реагенты, входящие в состав набора реагентов «LAMP-STAPH-test», относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

Реагенты, входящие в набор «LAMP-STAPH-test», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «LAMP-STAPH-test», не токсичны, поскольку готовятся путём смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

Работу с материалом, заражённым или подозрительным на заражённость, проводят в соответствии с санитарно-

эпидемиологическими требованиями по профилактике инфекционных болезней (СП 3.3686-21), МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением санитарно-эпидемических правил 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». Необходимо следовать рекомендациям, изложенным в МУ «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (МУ 287-113), МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- удалять неиспользованные реактивы в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»;

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок после проведения амплификации) недопустимо

открытие пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами амплификации лабораторной зоны, оборудования и реагентов;

- лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса;

- использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду 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 минут;

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

- допускать к работе с набором только специально обученный персонал (специалист с высшим медицинским образованием, прошедший обучение на лицензированных курсах специализации по ПЦР-диагностике, а также лаборант со средним специальным медицинским образованием);

- не использовать набор по истечении срока годности;

- не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию;

- использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно мыть руки по окончании работы;

- все компоненты набора нетоксичны для человека в используемых концентрациях. При попадании на кожу или слизистые оболочки компонентов набора место контакта необходимо промыть большим количеством воды.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий,

электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов

Оборудование:

Оборудование для проведения LAMP:

1. Бокс биологической безопасности II и III класса защиты (например, «БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия);
2. Вортекс (например, «ТЭТА-2», ООО «Биоком», Россия);
3. Набор электронных или автоматических дозаторов переменного объёма (например, Eppendorf, Германия);
4. Холодильник с температурным режимом от +2 °С до +8 °С с морозильной камерой, с температурным режимом не выше -16 °С;
5. Амплификатор³ с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени по каналам, соответствующим флуорофорам FAM/Green, ROX/Orange: CFX96 (BioRad, США), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

³ Амплификаторы должны обслуживаться, калиброваться и использоваться в соответствии с рекомендациями производителя. Использование данного набора в неоткалиброванном приборе может оказать влияние на рабочие характеристики набора реагентов.

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

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

1. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, 200 мкл, 20 мкл и 10 мкл (например, Ахуген, США);
2. Одноразовые стерильные пробирки типа «Эппендорф» на 1,5 или 2,0 мл;
3. Тонкостенные одноразовые пробирки с оптически прозрачной крышкой (в случае детекции через крышку) или оптически прозрачными стенками (в случае детекции через стенку пробирки) для ПЦР: пробирки для ПЦР объёмом 0,1 или 0,2 мл, или пробирки для ПЦР объёмом 0,1 или 0,2 мл в стрипах, или планшеты для ПЦР с оптически прозрачной плёнкой (например, Ахуген, США), совместимые с используемым амплификатором;
4. Халат и одноразовые перчатки без талька;
5. Ёмкость с дезинфицирующим раствором;
6. Штативы «рабочее место» для пробирок объёмом 0,1 или 0,2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,1 или 0,2 мл (например, ООО «ИнтерЛабСервис», Россия);
7. Штативы «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5-2 мл;
8. Кривоштангив;
9. Набор для выделения ДНК (см. п. 8.2.).

8. Анализируемые образцы

Тип анализируемого образца

Образцы ДНК, выделенные из клинического материала (мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови, пунктатов из очагов поражения органов и тканей), а также нативные мазки и смывы, не прошедшие этап выделения (мазки из ротоглотки, смывы с медицинского оборудования и инструментария).

8.1 Процедура получения клинического материала

ВНИМАНИЕ! Работу с материалом, заражённым или подозрительным на заражённость, проводят в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями по профилактике инфекционных болезней (СП 3.3686-21)МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых

кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

Мазок со слизистой оболочки ротоглотки.

Мазок со слизистой оболочки ротоглотки (зева). Мазок берут сухими ватными тампонами на пластиковой основе вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки.

После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку типа Эппендорф с транспортной средой (или 500 мл стерильного физиологического раствора) и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом внутри. Пробирку плотно закрывают крышкой.

Моча.

Порцию мочи (примерно 50 мл) следует собрать в стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

Стерильные, свободные от РНКаз промаркированные пластиковые центрифужные пробирки объемом 50, 15, 10 или 2 мл наполняют отобранными образцами мочи отдельными стерильными наконечниками.

Пробирки на 50, 15 или 10 мл центрифугируют при 3 000 g в течение 20 минут или при 5 000 g в течение 15 минут; пробирки на 2 мл допускается центрифугировать при 10 000 g в течение 5 минут.

Не задевая осадков, отдельными стерильными наконечниками удаляют надосадочную жидкость.

При использовании пробирок на 15, 10 или 2 мл, поверх осадков аккуратно настилают следующие порции мочи тех же образцов отдельными стерильными наконечниками, не допуская кросс-контаминации, повторяют центрифугирование до полного использования объемов мочи.

Мокрота. Следует собирать в одноразовые завинчивающиеся емкости с широким горлом объемом не менее 50 мл. Рекомендуемый объем биоматериала – от 3 до 5 мл. В целях повышения информативности практикуется повторное (до трех раз в течение трех последовательных дней) исследование мокроты.

Кровь. Рекомендуется собирать в вакуумные пробирки с консервантом ЭДТА. После забора биоматериала рекомендуется несколько раз перевернуть пробирку для перемешивания консерванта.

Пунктаты из очагов поражения органов и тканей. Следует помещать в одноразовые вакуумные пробирки с консервантом ЭДТА или одноразовые завинчивающиеся пробирки объемом 1,5 мл, содержащие 0,2 мл стерильного физиологического раствора.

Смывы с медицинского оборудования, инструментария.

Ватный зонд-тампон погрузить в пробирку с транспортной средой (или 500 мл стерильного физиологического раствора), выдержать 3-5 сек. до пропитывания. Взять смыв с участка площадью 10 см². Перенести зонд-тампон в пробирку с транспортной средой (или 500 мл стерильного физиологического раствора). Рабочую часть зонд-тампона, содержащую исследуемый материал, обломить и оставить в пробирке. Пробирку плотно закрыть крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки.

Забор клинического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами I-IV групп патогенности.

Условия транспортирования и хранения клинического материала:

- при температуре от +18 °С до +22 °С в течение 4 часов;
- при температуре от +2 °С до +8 °С – в течение 2 суток;
- при температуре -20 °С – в течение 1 недели;
- при температуре -70 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

8.2. Процедура выделения ДНК из биологического материала (опционально)

Рекомендации по использованию набора для экстракции НК из клинического материала (мазков из ротоглотки, мочи, мокроты, крови):

- Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала "НК-Экстра" по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия (РУ № РЗН 2021/15428).

Для экстракции НК из клинического материала (пунктаты из очагов поражения органов и тканей):

- Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала "МАГНО-сорб" по ТУ 9398-106-01897593-2012, производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № ФСР 2010/07265 от 21.03.2022).

Во время процедуры выделения ДНК необходимо строго соблюдать протокол и требования инструкции применяемого набора реагентов.

ВНИМАНИЕ! К каждому исследуемому образцу перед выделением следует добавить 10 мкл ВКО из набора реагентов «LAMP-STARH-test». Образец ОКО также проходит процедуру выделения НК в объёме 100 мкл с добавлением 10 мкл ВКО. Если инструкцией производителя набора реагентов для выделения НК предусмотрено использование большего объёма образца, следует довести объём ОКО до требуемого физиологическим раствором.

Условия возможного хранения анализируемых образцов НК: в соответствии с инструкцией используемого набора для выделения НК.

В случае отсутствия этапа выделения ДНК предварительная обработка материала не требуется (для мазков из ротоглотки, смывов с медицинского оборудования и инструментария).

8.3 Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «LAMP-STARH-test» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые будут встречаться при процедуре забора клинического материала в следующих концентрациях и условиях проведения реакции:

Исследованные концентрации интерферирующих веществ:

Таблица 4 – Исследуемые концентрации интерферирующих веществ набора реагентов «LAMP-STAPH-test» при проведении процедуры выделения ДНК

Тип	Вещество	Активный компонент	Концентрация
Эндогенные	Биологические агенты	Гемоглобин	0,2 мг/100 мкл
		Гиалуриновая кислота	5 мкл/100 мкл
Экзогенные	Анальгетик-антипиретик	Парацетамол	0,004 мг/100 мкл
	Антибиотик группы пенициллинов широкого спектра действия	Амоксиклав - амоксициллин - клавулановая кислота	0,0175 мг/100 мкл 0,0025 мг/100 мкл

Таблица 5 – Исследуемые концентрации интерферирующих веществ набора реагентов «LAMP-STAPH-test» при отсутствии процедуры выделения ДНК

Тип	Вещество	Активный компонент	Концентрация
Эндогенные	Биологические агенты	Гемоглобин	0,01 мг/5 мкл
		Гиалуриновая кислота	0,125 мкл/5 мкл
Экзогенные	Анальгетик-антипиретик	Парацетамол	0,2 мкг/5 мкл
	Антибиотик группы пенициллинов широкого спектра действия	Амоксиклав - амоксициллин - клавулановая кислота	0,875 мкг/5 мкл 0,125 мкг/5 мкл
	Дезинфицирующее средство (для смывов с медицинского оборудования и инструментария)	дицилдиметиламмоний хлорид (ЧАС)	0,00045 mmol/5 мкл

На основании результатов исследования потенциально интерферирующие вещества, встречающиеся при процедуре выделения ДНК из клинического материала, оцениваемые при концентрациях, которые, как ожидается, будут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «LAMP-STAPH-test», не оказывают влияние на результат анализа.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание/оттаивание);
- не допускается использование образцов, загрязнённых посторонним биологическим материалом;
- не допустимо брать в работу гемолизованную и хилезную кровь. При постановке анализа таких образцов могут быть получены недостоверные результаты;
- для исследования не пригодны образцы крови, взятые в пробирки с гепарином или цитратом натрия в качестве антикоагулянта.

9. Подготовка компонентов набора для исследования

Установка, монтаж, настройка, калибровка медицинского изделия для ввода в эксплуатацию не требуется.

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free». Обязательно использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером для каждого компонента реакции.

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

ВНИМАНИЕ! Все этапы подготовки реакционных смесей проводить на льду или с применением криоштатива.

Подготовка компонентов набора для исследования

1. Тщательно перемешать содержимое пробирок с выделенной для анализа ДНК, ОКО, Буфер-1, Буфер-2, ПКО, ВКО, переворачивая каждую пробирку 10 раз или перемешивая на вортексе на низкой

скорости в течение 3-5 сек., а затем осадить капли с крышек пробирок коротким центрифугированием.

2. Отобрать необходимое количество пробирок (с оптически прозрачными крышками или стенками – в зависимости от используемого типа детектирующего амплификатора) объемом 0,1-0,2 мл для ПЦР из следующего расчёта: 1 х количество исследуемых образцов + 1хПКО + 1хОКО.

Перед приготовлением реакционных смесей необходимо произвести влажную уборку ПЦР-бокса, а также оборудования и материалов, находящихся в нём, с применением дезинфицирующих средств, пригодных для использования в ПЦР-лабораториях, включить УФ-лампу на 20-30 минут.

10. Проведение анализа

Проведение анализа состоит из следующих этапов:

- А) Подготовка к петлевой изотермальной амплификации;
- Б) Проведение петлевой изотермальной амплификации (LAMP) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;
- В) Регистрация и интерпретация результатов (подробно описано в главе 11).

А) Подготовка к петлевой изотермальной амплификации

Для приготовления реакционной смеси, при проведении анализа **с выделением НК**, необходимо из расчёта на одну реакцию:

1. Буфер-1 – 17 мкл,
2. Буфер-2 – 1 мкл,
3. Образец (исследуемый образец, ПКО, ОКО) – 7 мкл.

Общий объём реакции – 25 мкл.

Для приготовления реакционной смеси, при проведении анализа **без выделения НК**, необходимо из расчёта на одну реакцию:

1. Буфер-1 – 17 мкл,
2. Буфер-2 – 1 мкл,
3. ВКО – 2 мкл,
4. Образец (исследуемый образец, ОКО) – 5 мкл, (ПКО) – 7 мкл.

Общий объём реакции – 25 мкл.

ВНИМАНИЕ! Все этапы подготовки реакционных смесей проводить на льду или с применением криоштатива.

Б) Проведение петлевой изотермальной амплификации (LAMP) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

Протокол проведения амплификации с процедурой выделения НК:

Готовить реакционные пробирки необходимо согласно таблице 6 в следующем порядке:

1. Промаркировать пробирки объемом 0,2 мл для ПЦР.
2. В отдельной одноразовой стерильной пробирке типа «Эппендорф» объемом 1,5 или 2,0 мл приготовить реакционную смесь: $(n+3) \times 17$ мкл Буфера-1 и $(n+3) \times 1$ мкл Буфера-2, где n – количество исследуемых образцов. Тщательно перемешать реакционную смесь в течение 3-5 с на вортексе, сбросить капли кратковременным центрифугированием.
3. В подготовленные пробирки для ПЦР внести по 18 мкл реакционной смеси.
4. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 7 мкл выделенной ДНК. В пробирки для ПКО и ОКО препарат ДНК не вносится.
5. Внести в соответствующую пробирку 7 мкл ПКО.
6. Внести в соответствующую пробирку 7 мкл ОКО, прошедшего этап выделения НК.

Протокол проведения амплификации без процедуры выделения НК:

Готовить реакционные пробирки необходимо согласно таблице 6 в следующем порядке:

1. Промаркировать пробирки объемом 0,2 мл для ПЦР.
2. В отдельной одноразовой стерильной пробирке типа «Эппендорф» объемом 1,5 или 2,0 мл приготовить реакционную смесь: $(n+3) \times 17$ мкл Буфера-1 и $(n+3) \times 1$ мкл Буфера-2, где n – количество исследуемых образцов. Тщательно перемешать реакционную смесь в течение 3-5 с на вортексе, сбросить капли кратковременным центрифугированием.
3. В подготовленные пробирки для ПЦР внести по 18 мкл реакционной смеси.

4. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов и ОКО по 2 мкл ВКО. В пробирку для ПКО ВКО не вносится.
5. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 5 мкл клинического материала (мазок в физиологическом растворе). В пробирки для ПКО и ОКО клинический материал не вносится.
6. Внести в соответствующую пробирку 7 мкл ПКО.
7. Внести в соответствующую пробирку 5 мкл ОКО.

Таблица 6 – Схема приготовления реакционных смесей для исследуемых образцов, положительного и отрицательного контроля

№ п п	Название реагента	Исследуемый образец	Положительный контроль (ПК)	Отрицательный контроль (ОК)
1.	Буфер-1, мкл	17	17	17
2.	Буфер-2, мкл	1	1	1
При проведении процедуры выделения НК				
3.	Отрицательный контрольный образец (ОКО), прошедший этап выделения ДНК, мкл			7
4.	Положительный контрольный образец (ПКО), мкл		7	
5.	Препарат ДНК, полученный при выделении НК из клинического материала, мкл	7		
Без проведения процедуры выделения НК				
6.	Отрицательный контрольный образец (ОКО), мкл			5
7.	Положительный контрольный образец (ПКО), мкл		7	
8.	Жидкость, содержащая нативный мазок, мкл	5		
9.	Внутренний контрольный образец (ВКО)	2	-	2
Итоговый объём, мкл		25	25	25

8. Для сброса капель со стенок отцентрифугировать пробирки в течение 1-3 секунд на микроцентрифуге-вортексе.
9. Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в «реальном времени». Рекомендуется устанавливать пробирки по центру

термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой.

10. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы LAMP и детекции флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора (таблица 7).

ВНИМАНИЕ! В случае использования амплификатора «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) необходимо произвести настройку экспозиции измерений для канала FAM значение: 200, для канала ROX значение: 1 000.

Таблица 7 – Протокол LAMP

Стадия	Температура, °С	Время, мин.:сек.	Каналы детекции	Всего циклов
1	65	01:00	FAM/Green, ROX/Orange	35

Указать количество и идентификаторы образцов, отметить расположение пробирок в термоблоке в соответствии с их установкой.

ВНИМАНИЕ! Не допускается инкубация образцов при температуре 65 °С дольше указанного времени, так как это может привести к получению ложноположительных результатов.

11. Удостовериться, что в параметрах оптических измерений программы амплификации задействованы каналы детекции FAM/Green, ROX/Orange.

12. Запустить программу с детекцией флуоресцентного сигнала.

13. По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

11. Регистрация и интерпретация результатов

Регистрацию результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения LAMP с детекцией в режиме «реального времени».

Анализируют наличие кривых накопления флуоресцентного сигнала и фиксируют пороговые циклы прохождения реакции по каналам FAM/Green, ROX/Orange.

В некоторых случаях могут наблюдаться кривые, отличающиеся от классической S-образной формы. В большей

степени это характерно для образцов с более низкой концентрацией ДНК.

В первые 5 циклов инкубации возможны неспецифические колебания графиков флуоресценции, в том числе пересекающиеся с пороговой линией. Такие колебания следует игнорировать при интерпретации результатов.

Рекомендации по установке пороговой линии

Для амплификаторов любой модели пороговая линия устанавливается индивидуально для каждого канала детекции на уровне, соответствующем 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контрольного образца в последнем цикле амплификации.

В случае использования амплификаторов Rotor-Gene Q необходимо активировать функции «Динамич. фон» (Dynamic Tube), «Коррект. уклона» (Noise slope correction), установить значение 10% в разделе «Устранение выбросов» (Outlier Removal).

Сначала оценивают прохождение реакции и значения C_t в контрольных образцах. Интерпретацию результатов в исследуемых образцах начинают только при правильном прохождении ПКО и ОКО.

Интерпретация результатов в контрольных образцах

Критерии оценки результатов амплификации для контрольных образцов:

Значения C_t для ПКО не более 25 цикла по каналу FAM/Green, по каналу ROX/Orange значения C_t не более 25 цикла.

При получении для ПКО значений, отличающихся от указанного диапазона, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов. При повторном получении для ПКО значений, отличающихся от указанного диапазона, необходимо заменить реагенты.

Значения C_t для ОКО не более 30 цикла по каналу ROX/Orange; реакция по каналу FAM/Green должна отсутствовать.

При получении реакции для ОКО по каналу FAM/Green результаты всей постановочной серии считаются недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

Набор считают годным, если по результату реакций по каналам FAM/Green, ROX/Orange соответствуют значениям таблицы 8.

Таблица 8 - Оценка результатов амплификации для контрольных образцов

№ п/п	Показатель	Показатель по оптическим каналам, Ct	
		FAM/Green	ROX/Orange
1	ПКО	≤25	≤25
2	ОКО	отсутствует	≤30

Интерпретация результатов в исследуемых образцах ДНК

Анализ результатов при проведении качественного анализа представлен в таблице 9.

Таблица 9 – Оценка результатов амплификации для исследуемых образцов

Показатель по оптическим каналам, Ct		Результат
FAM/Green	ROX/Orange	
отсутствует	Ct ≤30	ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> не обнаружена
Ct ≤30	не учитывается ⁴	ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> обнаружена
отсутствует	Ct >30 или отсутствует	Результат невалидный
Ct >30	Ct ≤30	Результат сомнительный

Причиной получения невалидного результата может служить присутствие ингибиторов в образце, неверное выполнение протокола анализа, несоблюдение температурного режима и др.

Причиной получения сомнительного результата может служить низкая концентрация ДНК в клиническом образце.

В случае невалидного и сомнительного результата заключение не выдаётся, необходимо повторно взять у пациента биоматериал и заново провести анализ.

⁴ При высоких концентрациях ДНК *Staphylococcus aureus* выход по каналу ROX может происходить на поздних циклах или отсутствовать.

Диагностическое значение полученного результата исследования:

Полученный положительный или отрицательный результат анализа может быть использован квалифицированным специалистом (врачом), с учётом данных клинической картины и других видов исследований в совокупности, для диагностики стафилококковой инфекции у пациентов вне зависимости от формы и стадии заболевания всех групп населения.

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов

Хранение

Набор реагентов «LAMP-STAPH-test» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от -15°C до -25°C в течение всего срока годности набора.

Допускается заморозка/оттаивание набора «LAMP-STAPH-test» не более 10 раз.

После вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование

Транспортировать набор реагентов «LAMP-STAPH-test» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Транспортировать при температуре от -15°C до -25°C в течение всего срока годности набора. Допускается транспортировка при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+6^{\circ}\text{C}$ до 7 суток.

Атмосферное давление не контролируется, так как не влияет на качество изделия.

Для обеспечения соблюдения условий транспортирования на протяжении всего срока транспортирования набор реагентов помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Тип, объем и количество хладоэлементов, закладываемых в термоконтейнер с транспортируемыми наборами реагентов, а также объем термоконтейнера подбираются в зависимости от продолжительности и условий транспортирования.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности

Срок годности набора реагентов «LAMP-STAPH-test» – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и

эксплуатации. Набор реагентов с истёкшим сроком годности применению не подлежит.

Срок годности вскрытых компонентов набора

12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при условии хранения при температуре от -15°C до -25 °С.

Срок годности приготовленных для работы компонентов набора

1 час при соблюдении условий, препятствующих высыханию компонентов, а также контаминации посторонним биологическим материалом.

13. Утилизация

Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (по причине истекшего срока годности, поврежденной потребительской упаковки/маркировки, поврежденной упаковки/маркировки реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам.

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации 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».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твёрдым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 170 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» собираются в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (кроме жёлтого и красного).

Оставшиеся после выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются сливом в канализацию с предварительным разбавлением реагента водопроводной водой 1:100 и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

Пробирки и упаковка набора реагентов «LAMP-STAPH-test» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

14. Гарантийные обязательства, контакты

Предприятие-изготовитель гарантирует качество и безопасность набора реагентов «LAMP-STAPH-test» в течение срока годности при соблюдении требований транспортирования и хранения продукции, а также при соблюдении правил эксплуатации.

При возникновении претензий по качеству наборов, нежелательных событий или инцидентов направлять информацию по адресу:

Общество с Ограниченной Ответственностью «ТестГен»

(ООО «ТестГен»),

432072 г. Ульяновск, Инженерный 44-й проезд, дом 9, офис 13

Тел.: +7 (499) 705-03-75

www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81

E-mail: help@testgen.ru

Приложение А

Набор реагентов LAMP-STAPH-test» соответствует следующим
межгосударственным стандартам на продукцию:

Обозначение	Наименование документа
ГОСТ ISO 14971-2011	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест- системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики invitro. Методы испытаний.
ГОСТ Р EN 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем(маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования

