Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»

_____ С.А. Самарин

«26» мая 2020 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПФ ДНК-Технология»

_____ С.П. Левичев

«26» мая 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов для выявления и типирования возбудителей грибковых инфекций рода Candida, Malassezia, Saccharomyces и Debaryomyces методом ПЦР в режиме реального времени

(МикозоСкрин)

по ТУ 21.20.23-104-46482062-2018

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ДНК-Технология ТС»
САМАРИН С.А.
ПОДПИСЬ

2020 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ВВК	- вульвовагинальный кандидоз
ВЗОМТ	- воспалительные заболевания органов малого таза
ИК	- инвазивный кандидоз
ЭНМТ	- экстремально низкая масса тела
ОРИТ	- отделения реанимации и интенсивной терапии
КВМ	- контроль взятия материала
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
ИВ	- интерферирующие вещества
НК	- нуклеиновые кислоты
ВК	- внутренний контроль
К+	- положительный контрольный образец
К-	- отрицательный контрольный образец

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, обусловленные дрожжевыми грибами, имеют широкий спектр клинических проявлений: от локального поражения кожи, слизистых оболочек урогенитальной, дыхательной систем и желудочно-кишечного тракта до фунгемии и полиорганного поражения. Являясь представителями условно-патогенной микробиоты макроорганизма, при определенных условиях дрожжевые грибы могут вызывать инфекционно-воспалительные поражения кожи и слизистых, а также тяжелые патологические состояния, вплоть до летального исхода.

Основными представителями дрожжевых грибов являются грибы родов Candida, Saccharomyces, Debaryomyces и Malassezia.

Род Candida включает более 100 видов, из них клиническое значение имеют около 20. Патогенными для человека являются C. albicans, C. tropicalis, C. krusei, C. lusitaniae, C. kefyr, C. glabrata, C. guilliermondii, C. parapsilosis, C. famata и др. Самым распространенным видом рода Candida является вид C. albicans [4].

Сравнительно недавно, в 2009 году, был зарегистрирован новый вид Candida – Candida auris, являющийся причиной инвазивных инфекций с высоким уровнем смертности, достигающим 60%. C. auris обладает множественной лекарственной устойчивостью к противогрибковым препаратам, некоторые штаммы могут быть устойчивы ко всем трем основным противогрибковым классам: азолы, полиены и эхинокандины. Клиническая диагностика данного вида кандидоза затруднена ввиду отсутствия патогномоничной симптоматики, а его идентификация возможна только физико-химическими (например, MALDI-TOF) или молекулярно-биологическими (например, ПЦР) методами.

Из грибов, относящихся к роду Saccharomyces, инфекционную патологию вызывает вид cerevisiae. Сахаромицеты являются условно-патогенными микроорганизмами, в норме их выделяют со слизистой оболочки ротовой полости, влагалища, обнаруживают в кале, мокроте и т.д. [5].

В настоящее время известно около 14 видов грибов рода Malassezia. Грибы рода Malassezia относятся к труднокультивируемым, требовательны к условиям сохранения культуры, обладают высокой способностью к видообразованию, что значительно затрудняет их изучение и диагностику [14; 16; 20; 24].

Заболевания, вызываемые дрожжевыми грибами, делятся на группы поверхностных и инвазивных микозов. Поверхностные микозы – это грибковое поражение слизистых оболочек, кожи и ее придатков, широко распространенное заболевание,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

поражающее поверхностные слои эпителия. К поверхностным микозам относятся: вульвовагинальный кандидоз (ВВК), являясь причиной таких осложнений как уретрит, цистит, ВЗОМТ, акушерская патология, инфицирование плода, послеродовый эндометрит и сальпингит; орофарингеальный кандидоз, а также дерматозы, ассоциированные с дрожжевыми грибами. Наиболее частым этиологическим фактором возникновения ВВК и орофарингеального кандидоза является C. albicans, составляя 50-89 % случаев. Однако в последнее время увеличивается доля видов Candida non-albicans: C. glabrata (29,5-50,4 %), C. parapsilosis (13,7 %), C. tropicalis (10,7-17,9 %), C. krusei (Pichia kudriavzevii) (10,9 %), C. lusitaniae (Clavispora lusitaniae) и C. kefyr (Kluyveromyces marxianus) (7,2 %). Другие виды, такие как C. guilliermondii (Meyerozyma guilliermondii), C. dubliniensis, регистрируются значительно реже - от 0,2 до 3,7 %. В 11,8-16,2 % случаях причиной ВВК могут стать дрожжи Saccharomyces cerevisiae, симптомы заболевания будут соответствовать кандидозной этиологии, но степень выраженности клинической картины - значительно меньше [6; 7; 9; 10; 11; 19; 25; 26; 32].

Грибы рода Malassezia принимают непосредственное участие в патогенезе таких заболеваний как атопический дерматит, псориаз, микробная экзема, нейродермит и т.д., оказывая усугубляющее влияние на их течение [14; 17; 20; 33].

Для подтверждения наличия кандидозной инфекции необходима не только качественная, но и количественная оценка дрожжевых грибов, проводимая в сопоставлении с клинической симптоматикой, с учетом наличия фоновых заболеваний, микст-инфекции.
Обнаружение Candida spp. в нестерильных локусах не является основанием для постановки диагноза «кандидоз», т.к. представители рода Candida могут входить в состав нормальной флоры. В этих случаях употребляется термин «носительство»; при этом число геном-эквивалентов возбудителя не будет превышать 2-3 lg /мл (10^2-10^3 КОЕ/мл).
При большем значении этой величины и при отсутствии симптомов воспаления, можно говорить о «повышенной колонизации». И, наконец, при наличии признаков раздражения слизистой оболочки, связанной с инвазией возбудителя в ткань, используется термин «инфекция», т.е. кандидоз (например, признано, что обнаружение 10^4-10^5 КОЕ/мл грибов Candida в моче при не катетеризованном мочевом пузыре может свидетельствовать о кандидозе почек) [8].

Инвазивные микозы – состояния, при которых грибы выделяют из биосубстратов, стерильных в норме. Ежегодно в мире регистрируется около 250 000 случаев инвазивного кандидоза (ИК), в России данный показатель составляет более 10 000. К группам риска относят пациентов, находящихся в ОРИТ, пациентов с заболеваниями,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

сопровождающимися нейтропенией (гемобластозы, солидные опухоли, трансплантация кроветворных стволовых клеток), недоношенные новорожденные с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ). Развитию инвазивных микозов способствуют: использование центральных венозных или мочевых катетеров, эндотрахеальная интубация, полное парентеральное питание, длительное пребывание в ОРИТ, применение антибактериальной, кортикостероидной, цитостатической, лучевой и химиотерапии, обширные ожоги и т.д. В зависимости от присутствия инфекции в крови и поражения внутренних органов, выделяют фунгемию без поражения внутренних органов, органное поражение без фунгемии и сочетание фунгемии и органного грибкового поражения. Летальность колеблется от 10 до 49 % в группах с различными факторами риска. Отмечено, что клинические симптомы при сепсисе грибковой этиологии не отличаются от таковых при сепсисе бактериальной природы, поэтому крайне важно своевременно выявлять этиологическую причину инфекционного процесса. Примерно в 90 % случаев причиной фунгемий и инвазивных микозов являются грибы рода Candida. Самым патогенным и часто встречающимся является вид C. albicans (48-54 %), реже диагностируются C. glabrata (13,8-23 %), C. parapsilosis (11-18,5 %), C. auris (10 %), C. tropicalis (6-10 %), C. krusei (2-2,5 %). В последние годы прослеживается тенденция к увеличению значимости non-albicans видов в возникновении инвазивного кандидоза [18; 22; 23]. Наряду с грибами рода Candida, этиологическое значение в развитии катетер-ассоциированной фунгемии имеют грибы рода Malassezia, в частности Malassezia furfur [1; 12; 14; 16; 20; 24].

Существует прямая зависимость между сроками начала лекарственной терапии противогрибковыми средствами и уровнем летальности: назначение противогрибковой терапии спустя 12 часов после начала инфекционного процесса увеличивает смертность более чем в 2 раза. Задержка до 48-ми часов и более, увеличивает летальность почти в 3 раза в сравнении с ранним началом (до 12 часов) терапевтических мероприятий. Таким образом, актуальным становится выявление этиологического фактора в кратчайшие сроки. Однако «золотой стандарт» - культуральная диагностика не дает такой возможности, поэтому перспективным признана разработка молекулярно-генетических методов, в т.ч. метода ПЦР, который сократит время исследования до 3-4 часов, позволив увеличить количество благоприятных исходов инфекционного процесса [2; 3; 13; 15; 21; 27; 28; 29; 30; 31].

Корректная и своевременная видовая идентификация, и количественная оценка грибов – важная задача для постановки диагноза. В зависимости от видовой принадлежности и количества возбудителя тактика лечения больных с инвазивными

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

микозами может существенно отличаться. Одним из наиболее перспективных подходов, которые можно использовать для решения этой задачи, являются молекулярно-генетические методы с использованием полимеразной-цепной реакции (ПЦР). В сравнении с фенотипическими микробиологическими методами такой подход наиболее быстрый (классическая диагностика занимает более 48 часов), требует меньшего количества биологического материала, что особенно важно при диагностике фунгемии у глубоконедоношенных детей. По сравнению с методами, связанными с таргетным секвенированием видоспецифических генов, ПЦР-методики существенно дешевле, гораздо более доступны в клинической практике и занимают меньше времени.

Список литературы

1. Богданова, Т. В. Морфолого-физиологические характеристики дрожжевых организмов – Malassezia species (Malassez, 1874) Bailloon, 1989 [Текст]: (обзор) / Т. В. Богданова, Н. П. Елинова // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13. – № 1. – С. 3-14.
2. Бурова, С. А. Инвазивные микозы в отделениях интенсивной терапии: обзор литературы (сообщение 1) // Инфекции в хирургии. – 2014. – Т. 12. - № 2. – С. 12-16.
3. Веселов, А. В. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов / А. В. Веселов, Р. С. Козлов // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2016. – Т. 18. – № 2. – С. 286-304.
4. Сахарук, Н. А. Кандидоз: этиология, клиника, диагностика, лечение: [монография] / Н. А. Сахарук, В. В. Козловская. – Витебск: ВГМУ, 2010. – 192 с.
5. Крюков, А. И. Эпидемиология грибковых заболеваний верхних дыхательных путей и уха / А. И. Крюков, В. Я. Кунельская, Г. Б. Шадрин // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13. – № 1. – С. 28-31.
6. Маликов, В. Е. Этиология вагинального кандидоза и проблема устойчивости к антимикотикам / В. Е.Маликов, Н. Е. Жарикова, Т. А. Романовская, Д. Н. Рассказов // Контрацепция и здоровье женщины. – 2002. – №1. – С. 9-16.
7. Мирзабалаева, А. К. Инфекционные вульвовагиниты: клиническая проблема и пути ее решения // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 6. – С. 51-55.
8. Мороз, А.Ф, Снегирёва, А.Е. Грибы рода Candida (Методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам) // Методические рекомендации. – М.: НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 2009. – 60 с.
9. Муравьева, В. В. Сравнительная оценка видовой идентификации вагинальных изолятов дрожжевых грибов методом MALDI-TOF MS и традиционными

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(биохимическими и фенотипическими) методами / В. В. Муравьева, Т. В. Припутневич, М. Г. Завьялова, А. С. Анкирская, Е. Н. Ильина // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т. 16. – № 1. – С. 10-17.

10. Прилепская, В. Н. Вагинальный кандидоз: этиопатогенез, клиника, диагностика, принципы терапии / В. Н. Прилепская, Г. Р. Байрамова // Контрацепция и здоровье женщины. – 2002. – №1. – С. 3-8.
11. Прилепская, В. Н. Вульвовагинальный кандидоз: современные методы лечения // Практическая гинекология. – М., 2001. – С. 177-189
12. Приходько, Н. А. Совершенствование диагностики, профилактики и лечения инвазивных микозов у недоношенных новорожденных в условиях стационара / Н. А. Приходько // Автореф. дис. ... к-та мед. наук. – Москва, 2016. – 24 с.
13. Aliaga, S., Clark, R., Laughon, M., et al. Changes in theincidence of candidiasis in neonatal intensive care units // Pediatrics. – 2014. – Vol. 133 (2). – P. 236-42.
14. Ashbee, H. R., Evans, E. G. Immunology of diseases associated ith Malassezia species // Clin Microbiol Rev. – 2002. – Vol. 15. – P. 21–57.
15. Blumberg, H. M., Jarvis, W. R., Soucie, J. M. et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey // Clin Infect Dis. – 2001. – Vol. 33. – P. 177–86.
16. Cabañes, F. J., Vega, S., Castellá, G. Malassezia cuniculi sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin // Med Mycol. – 2011. – Vol. 49. – № 1. – P. 40–48.
17. Chowdhary, A., Randhawa, H. S., Sharma, S., Brandt, M. E., Kumar, S. Malassezia furfur in a case of onychomycosis: Colonizer or etiologic agent? // Med Mycol. – 2005. – Vol. 43(1). – P. 87–90.
18. Clancy, C. J., Nguyen, M. H. Finding the «missing 50%» of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care // Clin Infect Dis. – 2013. – Vol. 56(9). – P. 1284–92.
19. Okungbowa, F. I., Isikhuemhen, O. S, and Dede, A. P. O. The distribution frequency of Candida species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities // Revised Iberoam Microbiology. – 2003. – Vol. 20. – № 2. – P. 60–63.
20. Gaitanis, G., Magiatis, P., Hantschke, M., Bassukas, I. D., Velegraki, A. The Malassezia gen us in skin and systemic diseases // Clin Microbiol Rev. – 2012. – Vol. 25. – P. 106–41.
21. Gudlaugsson, O., Gillespie, S., Lee, K., et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited // Clin Infect Dis. – 2003. – Vol. 37. – P. 1172–1177.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

22. Klingspor, L., Tortorano, A., Peman, J., et al. Invasive Candida infections in surgical patients in intensive care units: a prospective, multicentre survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (2006-2008) // Clin Microbiol Infect. – 2015. – Vol. 21(1). – P. 87.

23. Leroy, O. Epidemiology, management, and factors for death of invasive Candida infection in critical care: a multiceneter, prospective, observational study in France (2005–2006) / O. Leroy, J. P. Gangneux, P. Montravers, et al. // Crit. Care Med. – 2009. – Vol. 37. – P. 1612–8.

24. Levin, N.A., Delano, S. Evaluation and treatment of Malassezia related skin disorders // Cosmet Dermatol. – 2011. – Vol. 24. – P. 137–45.

25. Cetin, M. Distribution of Candida species in women with vulvovaginal symptoms and their association with different ages and contraceptive methods / M. Cetin, S. Ocak, A. Gungoren, A. U. Hakverdi // Scandinavian journal of infectious diseases. – 2007. – Vol. 39. – № 6–7. – P. 584–588.

26. Mohanty, S. Prevalence & susceptibility to fluconazole of Candida species causing vulvovaginitis / S. Mohanty, I. Xess, F. Hasan, A. Kapil, S. Mittal, J. E. Tolosa // Indian Journal of Medical Research. – 2007. – Vol. 126. – № 3. – P. 216–219.

27. Morrell, M., Fraser, V. J., Kollef, M. H. Delaying the empiric treatment of Candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality // Antimicrob Agents Chemother. – 2005. – Vol. 49 – P. 3640–3645.

28. Pappas, P. G., Dismures, W. E. Candidemia Today: diagnostic and Therapeutic Landscape. ICCAC, Denver, 2013.

29. Pfaller, M. A., Diekema, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem // Clin Microbiol Rev. – 2007. – Vol. 20. – P. 133–63.

30. Pfaller, M., Messer, S., Hollis, R., et al. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of Candida glabrata to fluconazole according to patient age and geographic location in the United States in 2001 to 2007 // J Clin Microbiol. – 2009. – Vol. 47(10). – P. 3185-90.

31. Saiman, L., Ludington, E., Dawson, J.D., et al. Risk factors for Candida species colonization of neonatal intensive care unit patients // Pediatr Infect Dis J. – 2001. – Vol. 20. – P. 1119–24.

32. Sobel, J. D. Pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis // Curr Infect Dis Rep. – 2002. – Vol. 4. – P. 514–9.

33. Zomorodian, K., Mirhendi, H., Tarazooie, B., Zeraati, H., Hallaji, Z., Balighi, K. Distributio n of Malassezia species in patients with psoriasis and healthy individuals in Tehran, Iran // J Cutan Pathol. – 2008. – Vol. 35. – P. 1027–1031.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Настоящая инструкция распространяется на Набор реагентов для выявления и типирования возбудителей грибковых инфекций рода Candida, Malassezia, Saccharomyces и Debaryomyces методом ПЦР в режиме реального времени (МикозоСкрин) по ТУ 21.20.23-104-46482062-2018, далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Набор реагентов предназначен для выявления и типирования возбудителей грибковых инфекций рода Candida, Malassezia, Saccharomyces и Debaryomyces: Meyerozyma guilliermondii (C. guilliermondii), Candida albicans, Pichia kudriavzevii (C.krusei), Saccharomyces cerevisiae, Candida auris, Candida tropicalis, Clavispora lusitaniae (C.lusitaniae), Debaryomyces hansenii (C.famata), Candida dubliniensis, Candida glabrata, Candida parapsilosis, Malassezia spp., Kluyveromy cesmarxianus (C.kefyr), Malassezia furfur в препаратах, полученных из биологического материала человека (кровь, мокрота, моча, мазки\соскобы из дыхательных путей, желудочно- кишечного и урогенитального тракта, фекалии, биоптаты), из смывов с катетеров и эндотрахеальных трубок, а также из культур возбудителей микозов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием детектирующих амплификаторов.

1.3 Функциональное назначение: изделие предназначено для диагностики in vitro (выявление и типирование возбудителей грибковых инфекций в препаратах ДНК, полученных из биологического материала человека, из смывов с катетеров и эндотрахеальных трубок, а также из культур возбудителей микозов).

1.4 Показания к проведению анализа: подозрение на кандидоз, кандидемию, кандидурию или кандидоносительство; мониторинг динамики колонизации дрожжевыми грибами нестерильных в норме локусов пациентов, ран, катетеров; инфекционный контроль, в т.ч. у пациентов групп риска; исследование культур дрожжевых грибов с целью видовой идентификации.

Исследование применимо как для анализа клинического материала из предполагаемого очага инфекции, так и для предварительно выращенных на жидких и плотных средах культур возбудителей микозов.

1.5 Применение медицинского изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов. Противопоказаний к применению нет.

1.6 Набор может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Состав набора

Набор реагентов выпускается в стандартной фасовке (маркируется – фасовка S) и включает следующие компоненты:

REF R1-P023-S3/5, фасовка S			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная или голубая жидкость под белым воскообразным слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	4 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов	24 шт.		

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

2.2 Количество анализируемых проб

Набор реагентов предназначен для одноразового применения и рассчитан на проведение 24 определений, что соответствует исследованию не более 20 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца и положительного контрольного образца.

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени; полуколичественный мультиплексный анализ. Результат исследования выражен десятичным логарифмом количества копий ДНК-мишени в 1 мл препарата ДНК.

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции. Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройкой полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается для стандартной фасовки набора реагентов методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продуктов амплификации фрагментов геномов определяемых возбудителей микозов, включены флуоресцентные метки Fam и Cy5. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продуктов амплификации внутреннего контрольного образца (ВК) и контроля взятия материала (КВМ), входит флуоресцентный краситель Hex.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В наборе реагентов в состав смесей для амплификации № 1-7 добавлен внутренний контроль (ВК), предназначенный для оценки эффективности протекания полимеразной цепной реакции.

В состав смеси для амплификации в пробирке № 8 входит смесь для определения КВМ, который необходим для анализа качества выделения ДНК из образцов биологического материала, содержащего клетки человека, и позволяет определить, достаточно ли полученного количества ДНК для проведения анализа.

Для контроля расположения стрипа в термоблоке детектирующего амплификатора, в смесь для амплификации пробирки стрипа № 3 добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Rox – «Маркер». Он используется прибором как маркер определения положения стрипа в термоблоке детектирующего амплификатора. После прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера, и, если находит несовпадение, то предупреждает оператора об этом несоответствии.

Перечень показателей, определяемых набором реагентов, каналы детекции продуктов амплификации и цветовая маркировка смеси приведены в таблице 1.

Определение десятичного логарифма (lg) концентрации (количество копий ДНК-мишени в 1 мл препарата ДНК) проводится с использованием метода сравнения пороговых

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

циклов, также называемым методом ΔΔCt. Преимуществом метода ΔΔCt является более точное определение соотношения количества ДНК-мишеней даже в условиях субоптимальной эффективности ПЦР без необходимости построения калибровочной кривой (Shefe J. H. Quantitative real-time RT-PCR data analysis: current concepts and thenovel «gene expression's Ct difference» formula [Text] / J. H. Shefe, K. E. Lehmann, I. R. Buschmann, T. Unger, H. Funke-Kaiser // J. Mol. Med. – 2006. – Vol. 84. – P. 901–910 [DOI 10.1007/s00109-006-0097-6]).

В расчёте учитывается значения порогового цикла (Ct) и эффективности амплификации. Пороговый цикл – это точка на оси абсцисс графика накопления продуктов в зависимости от номера цикла амплификации. Для нахождения порогового цикла используют метод Crossing point - определение максимума второй производной (Ср) (Ребриков и др., 2014). Эффективность ПЦР - это число, показывающее, во сколько раз за один цикл амплификации изменится количество фрагментов ДНК.

Расчет проводится согласно формуле:

$$Log(NO_a) = Log(E) \times (Cp - Cp_a), \quad (1)$$

где $N0_a$ – исходное количество копий ДНК-мишени в 1 мл препарата ДНК исследуемого образца;

E – эффективность ПЦР;

Ср – пороговый цикл для образца, содержащего единственную молекулу ДНК;

Cp_a - пороговый цикл для анализируемого образца.

Значения E и Ср являются константами, примерно равными 2 и 45 соответственно. При максимальном значении эффективности ПЦР, равном 2, и при наличии выявляемой ДНК в исследуемом образце количество целевого ампликона увеличивается в 10 раз (на 1lg) за 3,4 цикла амплификации. Точное значение этих параметров для каждого набора праймеров и зондов хранится в файле настроек программного обеспечения.

Контроль эффективности ПЦР осуществляется с помощью положительного контрольного образца, входящего в состав набора.

Полное исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) комплектом/набором реагентов для выделения НК (см. п. 7.1) и ПЦР-амплификации с использованием набора реагентов МикозоСкрин.

2.4 Время проведения анализа (без учета пробоподготовки): от 1,5 часов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1 – Перечень показателей, определяемых набором реагентов, каналы детекции продуктов амплификации и цветовая маркировка смеси

№ пробирки в стрипе	Канал детекции					Цветовая маркировка смеси
	Fam	Hex	Rox	Cy 5	Cy 5.5	
1	Meyerozyma guilliermondii (C.guilliermondi)	ВК	-	-	-	Голубая
2	Candida albicans	ВК	-	Pichia kudriavzevii (C.krusei)	-	Бесцветная
3	Saccharomyces cerevisiae	ВК	Маркер	Candida auris	-	
4	Candida tropicalis	ВК	-	Clavispora lusitaniae (Candida lusitaniae)	-	
5	Debaryomyces hansenii (C.famata)	ВК	-	Candida dubliniensis	-	
6	Candida glabrata	ВК	-	Candida parapsilosis	-	
7	Malassezia spp.	ВК	-	Malassezia furfur	-	
8	Kluyveromyces marxianus (C.kefyr)	КВМ	-	-	-	

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1 Специфичность анализа

В образцах исследуемого материала, содержащего ДНК выявляемых возбудителей микозов, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует положительные результаты амплификации специфических продуктов по заявленным каналам детекции.

В образцах исследуемого материала, не содержащего ДНК выявляемых возбудителей микозов, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует отрицательные результаты амплификации специфических продуктов по заявленным каналам детекции.

В образцах исследуемого материала, где присутствует геномная ДНК человека, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно фиксировать положительный результат амплификации КВМ.

В образцах исследуемого материала, где отсутствует геномная ДНК человека, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно фиксировать отрицательный результат амплификации КВМ.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций для каждой специфической системы, входящей в состав набора, к аналитам, выявляемым другими специфическими системами набора, а также неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образцах ДНК других микроорганизмов и\или ДНК человека в концентрации до $1{,}0\times10^8$ копий/мл образца.

3.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения установлен путем анализа серийных разведений лабораторных контрольных образцов (ЛКО) и составляет 5 копий ДНК на амплификационную пробирку ($1\text{x}10^3$ копий/мл препарата ДНК).

Предел обнаружения зависит от вида биоматериала, используемого набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК и конечного объёма элюции (разведения) выделенной ДНК. Например, чувствительность набора МикозоСкрин для культуры дрожжевых грибов составляет 50 копий/образец при выделении ДНК набором ПРОБА-НК (объем элюции 50 мкл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.3 Интерферирующие вещества

Наличие интерферирующих веществ (ИВ) в образце биологического материала может быть причиной ингибирования ПЦР и получения недостоверных результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта (см. раздел 2.3, раздел 9.4).

К ингибиторам ПЦР по результатам анализа рисков отнесены следующие вещества: гемоглобин, присутствующий в образце ДНК в результате неполного удаления в ходе выделения ДНК из образца биоматериала содержащего примесь крови, а также изопропиловый спирт и метилацетат, присутствующие в образце ДНК в результате неполного удаления промывочных растворов в ходе пробоподготовки.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на амплификацию лабораторного контрольного образца и внутреннего контрольного образца составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца ДНК, изопропиловый спирт – 100 мкл/мл образца ДНК, метилацетат – 100 мкл/мл образца ДНК; концентрации ИВ в образцах крови, при которых не наблюдается ингибирование ПЦР: билирубин – 684 мкмоль/л, холестерин – 13 ммоль/л, триглицериды – 37 ммоль/л.

Примеси, содержащиеся в образце биоматериала, такие как слизь, кровь, элементы тканевого распада и воспаления, местные лекарственные препараты, в том числе содержащиеся в вагинальных свечах, тальк, спермицид и др. удаляются в ходе выделения ДНК с использованием комплектов/наборов для пробоподготовки. Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия биологического материала. При подозрении на наличие в образце большого количества ингибиторов ПЦР рекомендуется выбирать методы выделения ДНК, позволяющие максимально удалить ингибиторы ПЦР из образца, не рекомендуется использовать экспресс-методы выделения ДНК.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.4 Диагностические характеристики

Количество образцов (n) – 429.

Диагностическая чувствительность (95% ДИ) – 100% (98,6 – 100%);

Диагностическая специфичность (95% ДИ) – 100% (97,9 – 100%).

3.5 Воспроизводимость и повторяемость

Совпадение результатов исследования клинических образцов

Показатель	Внутрилабораторная воспроизводимость (2 повтора каждого образца)	Стандартное отклонение lg концентрации (копии/мл), не более	Повторяемость результатов (3 повтора каждого образца)	Стандартное отклонение lg концентрации (копии/мл), не более
Meyerozyma guilliermondii (C.guilliermondi)	10 из 10	0,28	5 из 5	0,26
Candida albicans	10 из 10	0,21	5 из 5	0,26
Pichia kudriavzevii (C.krusei)	10 из 10	0,21	5 из 5	0,15
Saccharomyces cerevisiae	10 из 10	0,21	5 из 5	0,15
Candida tropicalis	10 из 10	0,21	5 из 5	0,25
Debaryomyces hansenii (C.famata)	10 из 10	0,14	5 из 5	0,15
Candida dubliniensis	10 из 10	0,21	5 из 5	0,15
Candida glabrata	10 из 10	0,14	5 из 5	0,15
Candida parapsilosis	10 из 10	0,21	5 из 5	0,15
Malassezia spp.	10 из 10	0,14	5 из 5	0,15
Malassezia furfur	10 из 10	0,21	5 из 5	0,15
Clavispora lusitaniae (Candida lusitaniae)	10 из 10	0,14	5 из 5	0,15
Candida auris	10 из 10	0,14	5 из 5	0,12
Kluyveromyces marxianus (C.kefyr)	10 из 10	0,14	5 из 5	0,15
КВМ	10 из 10	0,21	5 из 5	0,21

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных.

Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СП 1.3.2322-08 и определяется видом возбудителя, диагностическим методом, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

Использовать только новые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

Выделение ДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Подготовку к ПЦР с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Этап ПЦР следует проводить в помещении, снабженном комплектами полуавтоматических или автоматических дозаторов, халатами и прочими принадлежностями.

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение 30 минут.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.2322–08.

ВНИМАНИЕ! Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации (МУ 1.3.2569-09).

При возникновении контаминации в помещениях лаборатории немедленно останавливают работы и проводят мероприятия по ликвидации контаминации, после чего проводят внутрилабораторный контроль качества дезинфекции и проведенной деконтаминации ампликонов путём исследования смывов с рабочих поверхностей оборудования и поверхностей помещений.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790–10.

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора	МикозоСкрин
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Нет опасных веществ
Раствор Taq-полимеразы	Нет опасных веществ
Минеральное масло	Нет опасных веществ
Положительный контрольный образец	**Азид натрия менее 0,1%**

В состав набора входят реагенты, которые содержат **азид натрия** – консервант, в концентрации менее 0,1 %, что является безопасным для конечного пользователя.

При использовании по назначению и соблюдению мер предосторожности, контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц, аллергическая реакция. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;
- по истечению срока годности набора.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные:

- ПЦР-бокс;
- амплификатор детектирующий (ДТпрайм[1], ДТлайт[2] или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.9.5.25);
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объём жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька (неопудренные), текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующее средство.

Для взятия и предобработки материала для исследования и выделения НК:

- бокс биологической безопасности II класса;
- термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия или аналогичный с прижимной крышкой, и пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз

или термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 40 °С до 95 °С, и пробирки объёмом 1,5 мл с защёлкивающимися крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, например, Eppendorf Safe-Lock Tubes;

- электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора;
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, с RCF не ниже 16 000 x g;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- набор/комплект для выделения ДНК из биологического материала (рекомендуется ПРОБА-НК производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

[1] только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.
[2] только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют биологический материал человека (кровь, мокрота, моча, мазки/соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, фекалии, биоптаты), смывы с катетеров и эндотрахеальных трубок и культуры возбудителей микозов.

Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании совокупности жалоб пациента и клинической картины.

6.2 Общие требования

Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка.

Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 и СП 1.3.2322-08.

6.3 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Перед выделением ДНК требуется предварительная обработка образцов биологического материала (6.5).

6.3.1 Периферическая кровь

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. Для перемешивания крови с антикоагулянтом, после взятия материала, необходимо перевернуть пробирку 2-3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.3.2 Мокрота

Взятие материала осуществляют в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объёмом не менее 50 мл.

После сбора материала флакон плотно закрывают и маркируют.

6.3.3 Моча

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве не меньше 20 - 30 мл. Отбор мочи проводят в специальную сухую стерильный ёмкость объёмом до 60 мл, снабженную герметично завинчивающейся крышкой.

После сбора мочи контейнер плотно закрывают и маркируют.

6.3.4 Мазки\соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта

Забор материала осуществляется с помощью специальных стерильных одноразовых инструментов – зондов, цитощёток или тампонов, в зависимости от источника клинического материала согласно установленной процедуре.

После взятия биологического материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно прополощите его в течение 10–15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлеките зонд из раствора, прижимая его к стенке пробирки, отожмите избыток жидкости, удалите зонд и выбросьте. Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте.

Примечание – Перед получением соскоба эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала, свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном.

6.3.5 Фекалии

Для анализа используют пробы фекалий массой (объёмом) примерно 1–3 г (1–3 мл). Пробу в количестве 1 г (примерно) отдельным наконечником с фильтром или одноразовыми лопатками переносят в специальный стерильный сухой флакон.

После сбора фекалий флакон плотно закрывают и маркируют.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.3.6 Биоптаты

Биоптаты тканей поместите в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с транспортной средой предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.3.7 Смывы с фрагментов венозного катетера

Отрежьте стерильными ножницами 5-10 мм кончика катетера, поместите его в чистую пустую пробирку типа Эппендорф объёмом 1,5 мл.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку

6.3.8 Мазки с эндотрахеальных трубок

Взятие материала производится с поверхности эндотрахеальной трубки с помощью универсального зонда.

После взятия материала перенесите зонд в пробирку типа Эппендорф объёмом 1,5 мл с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно прополощите его в течение 10-15 с, избегая разбрызгивания жидкости. Затем извлеките зонд из раствора, прижимая его к стенке пробирки, отожмите избыток жидкости, удалите зонд и выбросьте.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.3.9 Смывы с эндотрахеальных трубок

Взятие материала производится в одноразовые, плотно завинчивающиеся пробирки объёмом 50 мл. После взятия материала пробирку плотно закрывают и маркируют.

Для перемешивания материала необходимо перевернуть пробирку 3-5 раз.

6.3.10 Бактериальные культуры

Взятие материала с жидких и плотных сред осуществляется при помощи одноразовой микробиологической петли или шпателя.

Поместите одиночную колонию клеток или 100 мкл жидкой среды в пластиковую пробирку объёмом 1,5-2,0 мл, в которую предварительно внесено 500 мкл физиологического раствора стерильного.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.4 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

6.4.1 Кровь

Образцы крови допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 20 °С до 25 °С – не более 2 часов;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 6 часов с момента взятия материала.

ВНИМАНИЕ! Цельную кровь нельзя замораживать.

6.4.2 Мокрота

Образцы мокроты допускается транспортировать и хранить:

- при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) – не более 6 часов;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 3 суток.

6.4.3 Нативные и предварительно обработанные образцы мочи:

Нативные и предварительно обработанные образцы мочи допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.4.4 Мазки\соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта

Сроки транспортирования и хранения мазков\соскобов из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта определяются инструкциями к рекомендуемым комплектам реагентов для выделения ДНК.

6.4.5 Образцы нативных фекалий

Образцы нативных фекалий допускается транспортировать и хранить:

- при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) – не более 6 часов;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 3 суток.

6.4.6 Фрагменты венозных катетеров, мазки и смывы с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры, материал биопсии

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Фрагменты венозных катетеров, мазки и смывы с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры, материал биопсии допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более одних суток;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С – не более одной недели;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

6.5 Подготовка исследуемого материала

6.5.1 Кровь

Подготовка образцов крови для исследования проводится согласно инструкции к используемому комплекту/набору реагентов для выделения НК (см. 7.1).

6.5.2 Мокрота

6.5.2.1 Способ № 1

1. Перенесите примерно 500 мкл биологического материала в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.
2. Добавьте к пробе мокроты равный объём 10 % трехзамещённого фосфорнокислого натрия x12H_2O, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.
3. Инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 18–24 часов, затем нейтрализуйте 1 М HCl до pH 6,8-7,4.
4. Центрифугируйте при 1000 об/мин в течение 20 мин.
5. Слейте надосадочную жидкость в ёмкость с 5 % раствором хлорамина для обеззараживания.
6. Добавьте к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.
7. Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.
8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.2.2 Способ № 2

1. В контейнер с образцом добавьте муколизин в соотношении 5:1 (5 частей муколизина к одной части мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.
2. Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое и инкубируйте 20–30 мин при комнатной температуре, каждые 2–3 мин встряхивая контейнер.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.5.3 Моча

6.5.3.1 Перенесите 1,0 мл мочи в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

6.5.3.2 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

6.5.3.3 Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.

6.5.3.4 Добавьте к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.

6.5.3.5 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

6.5.3.6 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.4 Мазки\соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, в том числе мазки с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры с жидких и плотных сред

6.5.4.1 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

6.5.4.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.5 Фекалии – приготовление суспензии.

6.5.5.1 Перенесите примерно 0,1-0,2 г (мл) фекалий в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с 1,0 мл физиологического раствора стерильного.

6.5.5.2 Тщательно ресуспендируйте содержимое пробирки на вортексе в течение 5-10 с.

6.5.5.3 Дальнейшая обработка суспензии проводится в соответствии с инструкцией к используемому набору (комплекту) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.6 Биоптаты

6.5.6.1 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

6.5.6.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.7 Смывы с эндотрахеальных трубок

6.5.7.1 Перенесите 1,0 мл материала с помощью автоматического дозатора, используя наконечник с фильтром, в пробирку объёмом 1,5 мл.

6.5.7.2 Центрифугируйте пробирку при 16000 x g в течение 10 мин.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.5.7.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке объем (осадок + жидкая фракция), рекомендованный производителем набора (комплекта) реагентов для выделения ДНК из соответствующего биоматериала.

6.5.8 Фрагменты венозных катетеров (только при использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-НК)

6.5.8.1 Внесите в пробирку с фрагментом катетера 100 мкл дистиллированной воды или 100 мкл физиологического раствора стерильного.

6.5.8.2 Встряхните пробирку с фрагментом катетера в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

6.5.8.3 Внесите в пробирку 300 мкл лизирующего раствора из комплекта реагентов ПРОБА-НК.

6.5.8.4 Встряхните пробирку в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

6.5.8.5 Термостатируйте пробирку при 65 °С в течение 15 мин.

6.5.8.6 Осадите конденсат центрифугированием в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе и перенесите надосадочную жидкость в новую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

Дальнейшее выделение ДНК проводится, начиная с этапа добавления раствора для преципитации.

Дальнейшая обработка остальных видов исследуемого материала осуществляется согласно инструкциям к используемым комплектам реагентов для выделения ДНК.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из исследуемого материала

Для выделения ДНК рекомендуется использовать комплекты\наборы реагентов, имеющие регистрационные удостоверения медицинского изделия и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, комплект реагентов ПРОБА-НК, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту/набору реагентов.

Контроль качества выделенной ДНК осуществляется в ходе ПЦР с помощью системы внутреннего контроля (ВК), см.п.9.

ВНИМАНИЕ! Выделение ДНК из смывов с фрагментов венозных катетеров рекомендуется проводить с помощью комплекта реагентов ПРОБА-НК (см. 6.5.8).

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из исследуемого материала необходимо подготовить **отрицательный контрольный образец**, прошедший все этапы пробоподготовки. В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор в объёме, указанном в инструкции к комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот, или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего комплекта реагентов.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

7.2.1 Промаркируйте по одному стрипу со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца «К-» и положительного контрольного образца «К+».

Пример: Необходимо проанализировать два образца. Для этого необходимо промаркировать четыре стрипа: два для исследуемых образцов, один для «К-» и один для «К+» (таблица 2).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2 – Пример маркировки стрипов и пробирок для проведения ПЦР

Образцы	№ стрипа	№ пробирки в стрипе
Образец 1	1	Пробирки 1-8
Образец 2	2	Пробирки 1-8
К-	3	Пробирки 1-8
К+	4	Пробирки 1-8

7.2.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.3 Добавьте в каждую пробирку стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

7.2.4 Добавьте в каждую пробирку стрипов по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки стрипов.

7.2.5 Встряхните пробирки с препаратом ДНК, отрицательным контрольным образцом и положительным контрольным образцом в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.6 Внесите в каждую пробирку соответствующего промаркированного стрипа, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК (кроме стрипов, промаркированных «К+» и «К-»).

7.2.7 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К-», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 7.1).

7.2.8 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.

7.2.9 Центрифугируйте все стрипы в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.10 Установите все стрипы в блок детектирующего амплификатора.

7.2.11 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «Mycosis_screen.ini». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол тест «Mycosis_screen», укажите количество

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.10) и проведите ПЦР.

При выборе теста «Mycosis_screen» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» и ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	10	…	…	Хранение		Хранение

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

8.1 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.

8.2 Детекция и учёт результатов осуществляются амплификатором детектирующим автоматически.

8.3 После окончания программы амплификаций на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов. Анализ проводится автоматически программным обеспечением.

8.4 На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла по всем используемым каналам для каждой пробирки в термоблоке. В таблице справа будет показан идентификатор образца, пороговые циклы (Ср) и десятичные логарифмы (lg) концентраций копий ДНК-мишени в 1 мл препарата ДНК по соответствующим каналам, и интерпретация результата амплификации («+» или « - »).

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

8.5 После прохождения амплификации программное обеспечение сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера Rox, и, если находит несовпадение (при неправильном расположении стрипов), то предупреждает об этом оператора. В этом случае необходимо проверить расположение стрипов в термоблоке (первая пробирка отмечена голубым буфером) и скорректировать идентификаторы пробирок в протоколе.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР

9.1 Учёт и интерпретация результатов реакции амплификации осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2 При анализе результатов необходимо учитывать значения контроля взятия материала (КВМ, пробирка стрипа № 8, канал Hex) и внутреннего контроля (ВК, пробирки стрипа № 1-7, канал Hex):

- Для контроля качества взятия исследуемого материала, содержащих клетки человека, используется показатель КВМ (наличие ДНК человека в достаточном количестве). Значение КВМ меньше 3,0 Lg при отсутствии специфических положительных результатов во всех пробирках стрипа следует интерпретировать как недостаточное количество материала. В этом случае рекомендуется повторное взятие материала для исследования.

ВНИМАНИЕ! При исследовании материала, не содержащего ДНК человека (фрагменты венозных катетеров, мазки и смывы с эндотрахеальных трубок, бактериальные культуры), значение КВМ не учитывается.

- Для контроля качества выделения ДНК из исследуемого материала используется ВК. Если ВК отсутствует в одной или нескольких пробирках стрипа, при отсутствии специфических положительных результатов в этих пробирках, результат исследования для данного образца считается недостоверным (нд) вследствие некорректного проведения ПЦР-реакции. В этом случае требуется или повторное проведение ПЦР для данного образца, или повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, или повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

9.3 В образцах исследуемого материала, содержащих ДНК выявляемых возбудителей микозов, во время проведения амплификации программное обеспечение регистрирует положительный результат по соответствующему каналу (Fam или Cy5) в соответствующей пробирке. В таблице справа, в строке с названием этого возбудителя будет указан результат качественного анализа («+»), значение порогового цикла (Cp) и десятичный логарифм концентрации (lg, количество копий ДНК-мишени в 1 мл препарата ДНК). Интерпретация результата – «обнаружено (N lg)».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.4 В образцах биологического материала, не содержащих ДНК выявляемых возбудителей, при проведении амплификации программное обеспечение будет регистрировать отрицательный результат по соответствующему каналу (Fam или Cy5) в соответствующей пробирке. В таблице справа в строке с названием этого возбудителя будет указан результат качественного анализа («-»). Интерпретация результата – «не выявлено».

9.5 В пробирке № 5 стрипа значение lg ≤2,5 по каналу Fam не учитывается программным обеспечением, и в таблице справа, в колонке «Результат» будет указан результат качественного анализа («-»). Интерпретация результата – «не выявлено».

9.6 В пробирке № 7 стрипа значение lg ≤2,5 по каналу Fam, при отсутствии экспоненциального роста уровня флуоресценции по каналу Cy5, не учитывается программным обеспечением, и в таблице справа, в колонке «Результат» будет указан результат качественного анализа («-»). Интерпретация результата – «не выявлено».

9.7 В пробирке № 8 стрипа значение lg ≤2,0 по каналу Hex не учитывается программным обеспечением, и в таблице справа, в колонке «Результат» будет указан результат качественного анализа («-»). Интерпретация результата – «не выявлено».

9.8 Для отрицательного и положительного контрольных образцов должны быть получены результаты, приведенные в таблице 4. В отрицательном контрольном образце значение lg ВК должно быть более или равно 3,5. В положительном контрольном образце значение lg ВК не учитывается.

9.9 При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 4, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

9.10 С помощью положительного контрольного образца, входящего в состав набора осуществляется контроль эффективности ПЦР. При соблюдении всех условий проведения реакции, количество ДНК-мишеней, определяемое в контрольном образце, должно находиться в диапазоне, указанном в таблице 4. При получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от значений, указанных в таблице 4, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 4 – Результаты исследования для отрицательного и положительного контрольных образцов

№ пробирки в стрипе	Выявляемый показатель	К- (lg)	К- результат	К+ (lg)	К+ результат
1	Meyerozyma guilliermondii	-	-	3,5-5,5	+
2	Candida albicans	-	-	3,5-5,5	+
	Pichia kudriavzevii	-	-	3,5-5,5	+
3	Saccharomyces cerevisiae	-	-	3,5-5,5	+
	Candida auris	-	-	3,5-5,5	+
4	Candida tropicalis	-	-	3,5-5,5	+
	Clavispora lusitaniae	-	-	3,5-5,5	+
5	Debaryomyces hansenii	-	-	3,5-5,5	+
	Candida dubliniensis	-	-	3,5-5,5	+
6	Candida glabrata	-	-	3,5-5,5	+
	Candida parapsilosis	-	-	3,5-5,5	+
7	Malassezia spp.	-	-	3,5-5,5	+
	Malassezia furfur	-	-	3,5-5,5	+
8	Kluyveromyces marxianus	-	-	3,5-5,5	+
	КВМ	-	-	3,5-5,5	+

По результатам исследования можно сформировать бланк ответа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

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

10.2 Хранение

10.2.1 Набор реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

10.2.2 Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.

10.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
- смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.

10.3.3 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе, в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы, относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

11.3 Упаковка набора реагентов (коробки, гриппперы) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

12.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для одноразового использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

IVD	Только для диагностики in vitro		Дата производства
	Температурный диапазон		Содержит инструкцию по применению
Σ	Количество определений	REF	Каталожный номер
	Годен до		Адрес производителя
LOT	Серия набора реагентов		Не допускается воздействие солнечного света

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-95 Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ Р 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения.

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

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 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым документом).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения и EN ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС»; ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

Адрес производителя: ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 4.

Место производства:

ООО «ДНК-Технология ТС»: Россия, 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр.4.

Рекламации по вопросам качества набора реагентов МикозоСкрин следует направлять по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125 ж, к.6, этаж 5, ком. 14, тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки:

8(800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

+7(495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru

Старший научный сотрудник
ООО «НПФ ДНК-Технология» Л.В. Огнева

«25» 05 2020 г.

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, академик РАН, профессор Г.Т. Сухих

«26» 05 2020 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru