

[제41호서식]

CHEONGNAM LAW & NOTARY OFFICE

Registered No. 2020 - 8941

NOTARIAL CERTIFICATE

CHEONGNAM LAW & NOTARY OFFICE

35, DUNSAN-RO, 137BEON-GIL, SEO-GU, DAEJEON 302-831 KOREA



Инструкция по применению

Набор реагентов для количественного определения РНК
вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном
времени
AccuPower HIV-1
(для «in vitro» диагностики)

REF HIV-1111

Approved by



(Signature)

Han-oh Park

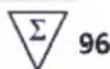
(Name of Responsible Person)

IVD

BIONEER
Innovation • Value • Discovery

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови
методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для
количественного определения РНК вируса ВИЧ-1
в плазме крови методом ПЦР в реальном времени
AccuPower HIV-1
(для «in vitro» диагностики)



Версия No.: 3.4 (2016-10)

Прочтите всю информацию в Инструкции, прежде чем применять прибор



BIONEER CORPORATION (БИОНИР КОРПОРЕЙШН)
8-11, Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon, 34302, REPUBLIC OF KOREA
(Республика Корея)
Тел. : +82-42-930-8777
Факс: +82-42-930-8677
Email: sales@bioneer.co.kr
www.bioneer.com

Предупреждения по безопасности и меры предосторожности

Запросите Центр обслуживания заказчиков компании BIONEER о предоставлении копии Спецификации по опасным материалам (MSDS) на этот продукт.

Прочтите Руководство пользователя и проверьте целостность всех пробирок, наконечников и других материалов, поставляемых с этим набором, перед применением.

До, во время и после применения этого набора, как описано в настоящей Инструкции, все потенциально опасные материалы (то есть материалы, которые могли войти в контакт с клиническими образцами), включая пробирки, наконечники и материалы, следует обрабатывать и утилизировать в соответствии с применимыми и соответствующими муниципальными/ правительственными нормами, действующими в месте применения этого продукта. Соблюдайте общие правила клинической лабораторной безопасности во время эксперимента.

Гарантии и ответственность

Все продукты компании BIONEER изготовлены и испытаны в соответствии со строгими протоколами контроля качества. BIONEER гарантирует качество всех продуктов, непосредственно выпущенных компанией, до истечения срока годности, напечатанного на этикетке. Если обнаружены любые проблемы, связанные с ухудшением качества продукта, немедленно обращайтесь в Центр обслуживания заказчиков компании BIONEER (order@bioneer.com).

Компания BIONEER не принимает на себя ответственность за неправильное применение продукта, то есть применение продукта для любых целей, кроме его предполагаемого использования, как описано в соответствующем и применимом Руководстве пользователя. Компания BIONEER принимает на себя ответственность при условии, что пользователь раскроет всю информацию, связанную с проблемой, компании BIONEER в письменной форме в течение 30 дней с ее возникновения.

Заявление об отказе от ответственности

Некоторые применения, которые могут быть осуществлены с этим набором, могут нарушать права некоторых существующих патентов в определенных странах. Приобретение этого набора не включает и не предоставляет лицензию на выполнение патентованных приложений. От пользователей может потребоваться получить лицензию в зависимости от страны и приложения. Компания BIONEER не оправдывает и не рекомендует нелегализованное применение патентованного применения.

Применение этого продукта предназначено только для квалифицированных и хорошо подготовленных пользователей при обращении с клиническими образцами и выполнении молекулярных биологических экспериментов. После испытаний все отходы следует утилизировать, выполняя нормы, действующие в стране.

*Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови
методом ПЦР в реальном времени AssuPower HIV-1*

Авторские права на данную Инструкцию по эксплуатации принадлежат компании BIONEER CORPORATION. Использование, перепечатка, дублирование и модификация его содержания частично или в целом строго запрещены.



1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1 - это диагностический набор для исследований *in vitro*, предназначенный для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

2. ВВЕДЕНИЕ

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) — это лентивирус (член семейства ретровирусов), вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Этот вирус передается от одного человека к другому через кровь и половой контакт. Кроме того, инфицированные беременные женщины могут передать ВИЧ своему младенцу во время беременности или родов, а также при кормлении грудью.

Статистика на конец 2010 г. показывает, что около 34 миллионов человек инфицированы вирусом ВИЧ. Каждый год около 2,7 миллионов человек становятся инфицированными ВИЧ, и 1,8 миллионов человек умирают от СПИД. Наиболее пораженный регион - Африка к югу от Сахары, где в нескольких странах более одного из пяти взрослых людей инфицированы ВИЧ.

Основные тесты для диагностики ВИЧ и СПИД включают ELISA (ИФА - иммуноферментный метод анализа), иммуно-химические экспресс-тесты (тест слюны, тест в домашних условиях), вестерн-блоттинг и определение вирусной нагрузки.

Для измерения количества РНК ВИЧ, также известного как «определение вирусной нагрузки», производится обратная транскрипция РНК (ферментом обратной транскриптазой) и последующая амплификация кДНК при полимеразной цепной реакции (ПЦР). Поскольку при этом тесте определяют не антитела к вирусу, а непосредственно ВИЧ в крови человека, его используют исследователи и организации, оказывающие услуги здравоохранения, для выявления инфекции. Это высоко точный, чувствительный и передовой метод распознавания ВИЧ на ранних стадиях и количественной оценки вирусной нагрузки.

3. СВОЙСТВА И ПРИНЦИП МЕТОДА

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени (далее по тексту ПЦР или PCR) включает избирательную амплификацию целевой последовательности вируса ВИЧ-1 (HIV-1), при мониторинге хода амплификации в реальном времени посредством проявляющего агента, такого, как флуоресцентный краситель. Специфичность обеспечивается парой специальных праймеров, добавляемых вместе с гидролизной пробой, также комплементарной специфичной последовательности. Мониторинг амплифицированного продукта осуществляется подобранной парой флуоресцентных красителей (каждый из которых содержит 5'- флуоресцентную метку и 3'- гаситель флуоресценции). Из-за передачи энергии при флуоресцентном резонансе (FRET), неповрежденный зонд не будет излучать свет. Однако после расщепления 5' – 3' под действием экзонуклеазы ДНК-полимеразы во время ПЦР, молекула флуоресцентного красителя будет излучать свет определенной длины волны в видимом спектре при расщеплении в силу связывания с ампликоном.

Набор был разработан так, чтобы добиться максимальной воспроизводимости и легкости в применении путем вакуумной сушки всех реагентов для ПЦР, включая праймеры, зонды, ДНК-полимеразу, дезоксирибонуклеозидтрифосфаты и соли, путем применения нашей патентованной технологии стабилизации для сохранения полной активности смешанных реагентов. Пара праймер-зонд была выбрана из совокупности комбинаций праймер-зонд, разработанных с применением алгоритмов биоинформатики, для достижения максимальной эффективности амплификации и для соответствия программе ПЦР-термоциклера со всеми другими диагностическими наборами AccuPower, так что продукт может использоваться одновременно с другими наборами из серий диагностических наборов AccuPower.

4. СОСТАВ НАБОРА И СВЯЗАННЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ

4.1 Состав набора

Таблица 1. Состав набора реагентов для количественного определения РНК ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1 (для «in vitro» диагностики)



Реагенты			Обозначение	Формат/ примечание	Описание реактива
№	Наименование	Количество			
①	Готовая смесь для амплификации HIV-1	12 стрипов по 8 пробирок	HIV-1 PCR Premix	В пакете из алюминиевой фольги (96 тестов)	Таблетка голубого цвета
②	HIV-1 стандартные положительные контроли РНК: - HIV-1 SPC1 - HIV-1 SPC2 - HIV-1 SPC3 - HIV-1 SPC4 - HIV-1 SPC5	- 1 пробирка (1,3 мл) - 1 пробирка (1,3 мл) - 1 пробирка (1,3 мл) - 1 пробирка (1,3 мл) - 1 пробирка (1,3 мл)	HIV-1 SPC S1 HIV-1 SPC S2 HIV-1 SPC S3 HIV-1 SPC S4 HIV-1 SPC S5	Пробирки 2 мл с зеленой завинчивающейся крышкой	Прозрачная бесцветная жидкость
③	Низко позитивный контроль HIV-1 PC (LPC)	- 3 пробирки (1,3 мл)	HIV-1 LPC	Пробирки 2 мл с синей завинчивающейся крышкой	Прозрачная бесцветная жидкость
	Высоко позитивный контроль HIV-1 PC (HPC)	- 3 пробирки (1,3 мл)	HIV-1 HPC	Пробирки 2 мл с красной завинчивающейся крышкой	Прозрачная бесцветная жидкость
④	Негативный контроль NTC	- 3 пробирки (1,3 мл)	NTC	Пробирки 2 мл с бесцветной завинчивающейся крышкой (контроль отсутствия матрицы)	Прозрачная бесцветная жидкость
	Буфер SL	- 2 пробирки (1,3 мл)	SL buffer	Пробирки 2 мл с бесцветной завинчивающейся крышкой (буфер уровня сигнала)	Прозрачная бесцветная жидкость
⑤	Прозрачная покрывающая пленка	- 1 шт	Optical Sealing film	1 лист	
Инструкция по применению					

Материалы, входящие в состав:

Наименование реагента	Описание	Состав
Готовая смесь для амплификации HIV-1	Таблетка голубого цвета	Tris-HCl, KCl, MgCl ₂ , специфические праймеры HIV-1, двойственно меченые флуоресцентные зонды, ДНК-полимераза, ферменты, dNTP (дезоксирибонуклеозидтрифосфаты) и стабилизаторы в лиофилизированном виде
HIV-1 стандартные положительные контроли РНК: - HIV-1 SPC1 - HIV-1 SPC2 - HIV-1 SPC3 - HIV-1 SPC4 - HIV-1 SPC5 Низко позитивный контроль HIV-1 PC (LPC) Высоко позитивный контроль HIV-1 PC (HPC)	Прозрачная бесцветная жидкость без осадка	вода деионизированная, неинфекционная РНК ВИЧ-1 в различных концентрациях: 4x10 ³ копий/мл 4x10 ⁴ копий/мл 4x10 ⁵ копий/мл 4x10 ⁶ копий/мл 4x10 ⁷ копий/мл 4x10 ³ копий/мл 4 x10 ⁵ копий/мл
Негативный контроль NTC	Прозрачная бесцветная жидкость без осадка	вода деионизированная
Буфер SL	Прозрачная бесцветная жидкость без осадка	Tris-HCl, MgCl ₂ , DTE, вода деионизированная

Более подробная информация о компонентах реагентов предоставляется изготовителем по письменному запросу.

4.2 Связанные инструменты

Данный набор разработан для использования с универсальной системой молекулярной диагностики *ExiStation*, объединяющей работу приборов: экстракторов нуклеиновых кислот *ExiPrep 16* (ПУ РЗН № ФСЗ 2010/06012) с прибором для проведения полимеразной цепной реакции *Exicycler 96* (ПУ РЗН № ФСЗ 2010/06013). Подробные инструкции смотрите в *Инструкции по эксплуатации* приборов *Exicycler 96*, *ExiPrep 16* и в данной инструкции в разделе Протокол.

5. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1, далее по тексту «набор AccuPower HIV-1», должен храниться при -25 до -15°C вне досягаемости УФ и солнечного света. Набор будет гарантированно стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Повторного размораживания и замораживания компонентов следует избегать, так как это может привести к снижению производительности анализа. Если набор будет использоваться с перерывами, только те компоненты, которые будут использоваться, должны быть взяты из морозильной камеры, повторно использовать открытые реагенты нельзя.

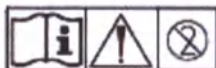
Срок годности набора 12 месяцев с даты производства. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Транспортирование. При температуре -25 ~ -15°C.

6. ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ (НЕ ПРЕДУСМОТРЕНЫ В НАБОРЕ)

- Одноразовые перчатки, неопудренные
- Набор пипеток подходящего объема
- Стерильные наконечники с фильтром для пипеток
- Микропробирки 1.5 мл, или конические пробирки 15 мл
- Соответствующий протокол и материалы, необходимые для экстракции нуклеиновой кислоты:
- Набор для выделения вирусной ДНК/ РНК *ExiPrep Dx* (далее по тексту набор для выделения или набор для пробоподготовки)
- Пробирка для загрузки образца с внутренним контролем РНК - РНК IPC (далее по тексту пробирка для загрузки образца или пробирка для образца)
- *ExiStation* Универсальная система молекулярной диагностики
- Прибор для проведения полимеразной цепной реакции *Exicycler 96* (далее по тексту прибор *ExiCycler 96*)
- Экстрактор нуклеиновых кислот *ExiPrep 16* (далее по тексту прибор *ExiPrep 16*)
- Микроцентрифуга/вортекс

7. ОБЩИЕ МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.



- Полимеразная цепная реакция в реальном времени с этим набором должна выполняться с применением Прибора для проведения полимеразной цепной реакции *Exicycler 96*
- Всегда носите перчатки и маску при работе с биологически опасными агентами.
- НЕ используйте повторно открытые реагенты, не смешивайте реагенты из разных производственных партий.
- Прочтите настоящую инструкцию перед применением.
- НЕ изменяйте протокол, описанный в настоящей инструкции по применению.
- Всегда используйте стерильные наконечники с фильтром.
- Клинические образцы и их производные следует хранить в отдельном месте/ морозильнике от места хранения остальных компонентов набора.
- Все работы с положительными контрольными образцами (HIV-1 SPC1-5, LPC и HPC) следует проводить (добавлять) в месте, физически отделеном от того, где восстанавливается готовая смесь для амплификации HIV-1 (далее по тексту HIV-1 PCR Premix).

8. УТИЛИЗАЦИЯ

На территории РФ следует проводить утилизацию образцов в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 как отходы класса Б (эпидемиологически опасные отходы)

Выбрасывайте все отходы, образовавшиеся до, во время и после эксперимента (жидкости и пластмассовые расходные материалы) в соответствующие контейнеры для биологически опасных материалов и утилизируйте в соответствии с местными и национальными правилами. Непользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, использованные реактивы также следует утилизировать в соответствии с местными/ национальными санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами.

До, во время и после применения этого набора, все потенциально опасные материалы (то есть материалы, которые могли войти в контакт с клиническими образцами), включая пробирки, наконечники, контейнеры и другие материалы, следует обрабатывать дезинфицирующими средствами и утилизировать в соответствии с применимыми и соответствующими муниципальными/ правительственными нормами, действующими в стране применения этого продукта – требованиями по обращению с медицинскими отходами и требованиями по безопасности работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней.

Утилизацию образцов следует проводить в соответствии с местными/ национальными правилами утилизации через уполномоченные организации в данном регионе. Следует убирать и дезинфицировать разлитые /оставшиеся образцы и отходы на различных стадиях обработки образца, используя дезинфицирующие средства в соответствии национальными требованиями к безопасной работе с патогенными микроорганизмами и возбудителями паразитарных болезней.

9. ОГРАНИЧЕНИЯ

Ограничения в использовании набора обусловлены ограничением метода ПЦР. Использование только в лабораториях квалифицированным медицинским персоналом.

Противопоказания

При использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены.

Требования к охране окружающей среды

Данное медицинское изделие при использовании, хранении и транспортировке безопасно для окружающей среды.

10. ПРОТОКОЛ

10.1 Лабораторное оборудование и среда

Мы рекомендуем, чтобы были приняты некоторые меры предосторожности для безопасности пользователя и лаборатории, а также для предотвращения контаминации.

При обращении с клиническими образцами, все связанные работы (то есть открывание колпачка, набор в пипетку, закрывание колпачка клинических образцов и контейнеров) следует выполнять в боксе микробиологической безопасности с отрицательным давлением (класс II или III). Бокс микробиологической безопасности с отрицательным давлением предотвращает утечку воздуха из бокса наружу, что предотвращает загрязнение лабораторной среды опасными веществами.

При открывании контейнеров, таких, как картриджи с буфером, включенные в набор для пробоподготовки, работу следует выполнять в среде с положительным давлением для предотвращения попадания веществ, загрязняющих среду и нарушающих чистоту принадлежностей. Бокс микробиологической безопасности с положительным давлением- это рабочее пространство, в котором фильтрованный воздух течет наружу, таким образом сохраняя чистую среду в рабочем пространстве.

Бокс микробиологической безопасности(класс II)	ПЦР Станция-1	ПЦР Станция -2
		
Обращение с клиническими образцами	Подготовка содержимого набора для выделения ДНК/РНК (для пробоподготовки)	После выделения нуклеиновой кислоты - закрытие ПЦР-пробирок и встряхивание на вортексе

10.2 Образец.



Со всеми образцами следует обращаться как с потенциально биологически опасными веществами. Оставшиеся/разлитые образцы и отходы на различных стадиях обработки образца следует убирать, используя дезинфицирующие средства в соответствии национальными требованиями к безопасной работе с патогенными микроорганизмами и возбудителями паразитарных болезней

10.2.1 Получение образца

Набор AccuPower HIV-1 оптимизирован для РНК, извлеченной из образцов человеческой EDTA-плазмы. Для получения плазмы используют стандартные пробирки для сбора образцов, такие как одноразовые пробирки, содержащие этилендиаминтетраацетат (EDTA) в качестве антикоагулянта. Все образцы должны храниться в емкостях, не содержащих консервантов.

10.2.2 Транспортировка образца

Все образцы следует транспортировать в небульющихся транспортных контейнерах, чтобы предотвратить потенциальное инфицирование из-за утечки образца. Образцы следует транспортировать в соответствии с местными/ национальными нормами относительно транспортировки биологически опасных веществ.

10.2.3 Хранение образца

Изолированная человеческая EDTA-плазма может храниться до 3 дней при 2~8°C. При длительном периоде хранения образцы следует хранить при -20°C ~ -80°C в аликвотах во избежание повторных циклов замораживания/ размораживания.

10.2.4 Вещества, отрицательно влияющие на результаты анализа

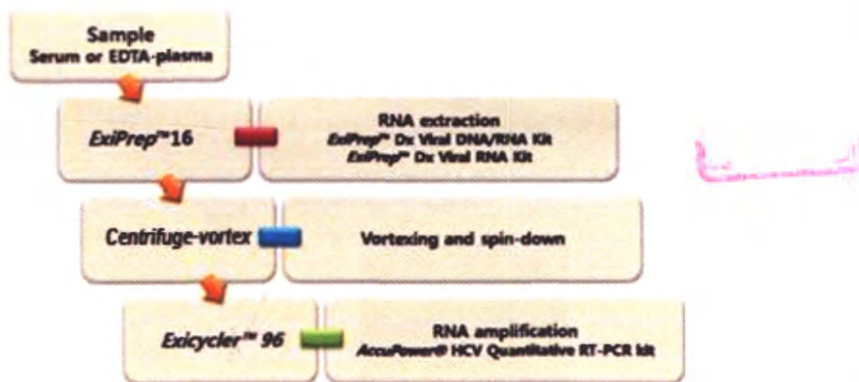
Гепарин (≥ 10 МЕ/мл) является ингибитором ПЦР. Образцы, которые были собраны в пробирки, содержащие гепарин, не следует использовать. Кроме того, образцы от пациентов, которых лечили гепарином, также не следует использовать. Клинические образцы могут содержать различные ингибиторы ПЦР. Для эффективной ПЦР такие ингибиторы следует удалить во время экстракции РНК и процесса очистки. Использование набора *ExiPrep Dx* для выделения вирусной ДНК/РНК производства компании Bioneer гарантирует удаление ингибиторов ПЦР и является рекомендованным.

10.3 Подготовка набора к работе

- Следует вынимать из морозильника только те компоненты, и в тех количествах, которые будут применяться в данную рабочую сессию, т.к. открытые реагенты не подлежат повторному использованию. Реагенты, включая пробирки с готовой смесью для амплификации, не следует хранить при 4°C .
- Всем компонентам набора следует дать медленно оттаять не менее чем в течение 10 минут до начала эксперимента при комнатной температуре.
- Встряхните все компоненты набора вихревым движением с последующим осаждением, чтобы обеспечить оптимальные результаты.
- Все дальнейшие работы с положительными контрольными образцами (HIV-1 SPC1~5, LPC и HPC) следует проводить (добавлять) в месте, физически отделенном от того, где восстанавливается готовая смесь для амплификации HIV-1 (далее по тексту HIV-1 PCR Premix).

10.4 Последовательность работы

Набор AccuPower HIV-1 предназначен для применения с Универсальной системой молекулярной диагностики *ExiStation*.



Образец EDTA- плазма (для данного набора)	
ExiPrep 16	Экстракция РНК Набор для выделения вирусной ДНК/ РНК <i>ExiPrep Dx</i>
Микроцентрифуга-вортекс	Встряхивание и осаждение
ExiCycler 96	Амплификация РНК Набор реагентов для количественного определения РНК ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HPV-1

При использовании набора в соответствии с системой *ExiStation*, и экстракция нуклеиновой кислоты, и ПЦР должны проводиться в соответствии с протоколом, описанным в настоящей инструкции. ПЦР может выполняться без дополнительных шагов по подготовке смеси для ПЦР при использовании универсальной системы молекулярной диагностики *ExiStation*. По завершении ПЦР, данные можно автоматически анализировать при помощи программного обеспечения *ExiStation Manager*. Дальнейшие рекомендации смотрите в инструкции (раздел 10.5).

10.5 Часть 1. Назначение теста.

- 1) Включите компьютер, на котором предварительно установлено программное обеспечение *ExiStation Manager*
- 2) Включите программное обеспечение *ExiStation Manager*, щелкнув мышью по иконке, расположенной на рабочем столе.



Иконка программного обеспечения *ExiStation Manager*

- 3) Включите Экстрактор нуклеиновых кислот *ExiPrep16* нажатием главной кнопки питания, расположенной на передней стороне прибора. Нажмите изображение «ПУСК» ('STARTING'), отображаемое на дисплее, чтобы начать пуск прибора.

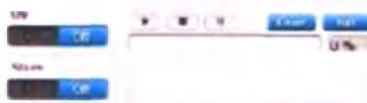


Кнопка пуска и главная кнопка питания *ExiPrep16*

- 4) Нажмите кнопку «РАЗЛИЧНЫЕ НАСТРОЙКИ» ('MISC SET') на жидкокристаллическом экране (или кнопку «Загрузка» ('Load') на программном обеспечении).



Жидкокристаллический экран *ExiPrep16*



Кнопка загрузки программного обеспечения *ExiStation Manager*

Набор реактивов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1

5) Прикрепите фильтровальную бумагу на Защитный экран. Прикрепите подготовленный Защитный экран, затем Протектор наконечников в прибор. Никогда не используйте повторно фильтровальную бумагу. Снова нажмите кнопку «РАЗЛИЧНЫЕ НАСТРОЙКИ» ('Misc Set').

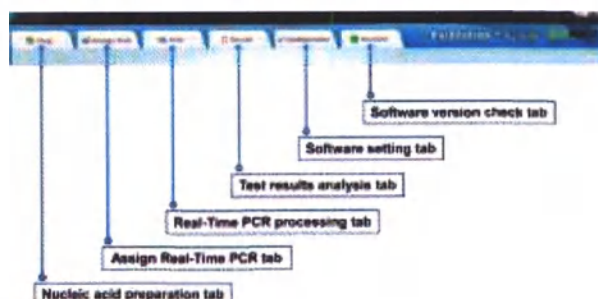


6) Программное обеспечение *ExiStation Manager* имеет шесть отдельных частей (6 закладок экрана).
Подготовка (Prep) – контроль экстракции нуклеиновой кислоты (на приборе *ExiPrep16*),
Выбор ПЦР (Assign PCR) – перенести информацию об образце из «Подготовка» 'Prep' в «ПЦР» ('PCR') (на *Exicycler 96*) и назначить запуск ПЦР.
ПЦР (PCR) – показывать условия амплификации в реальном времени (на *Exicycler 96*)
Результат (Result) – после пуска реакции ПЦР представлять текущую информацию об эксперименте и информацию о результате для образца
Конфигурация (Configuration) - информация о настройках программного обеспечения (доступна только для производителя)
Версия (Version) – действующая версия программного обеспечения



Главный экран программного обеспечения *ExiStation Manager*

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1



Функция 6 частей программного обеспечения ExiStation Manager

7) Щелкните мышью по ярлыку **Подготовка (Prep)** в левом верхнем углу главного экрана, чтобы инициировать процесс экстракции нуклеиновой кислоты.



Закладка управления пробоподготовкой «Подготовка» состоит из 5 панелей.

Панель статуса приборов – информация о статусе прибора ExiPrep16.

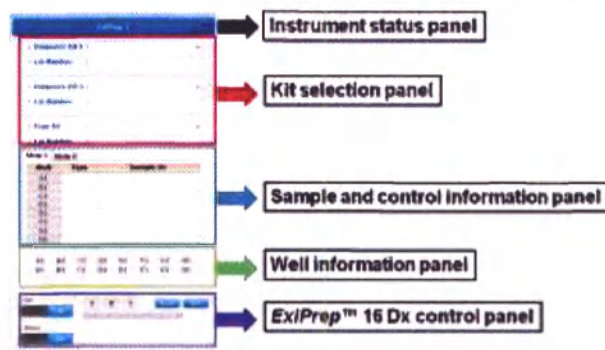
Панель выбора наборов реагентов – выберите диагностический набор и набор для пробоподготовки, и введите ручную или с помощью сканера штрих-кода информацию о партии набора.

Панель информации об образце и контроле – представляет информацию о контролях, включая NTC (негативный контроль), PC (позитивный контроль, LPS или HPS) и SPC (стандартные положительные контроли HIV-1 SPC1~5) и об образце. Введите информацию об образцах в поле Идентификатор Образца вручную или с помощью сканера штрих-кода.

Панель информации о лунках – представляет информацию о лунках, в которых выполняется тест, обозначая их цветом.

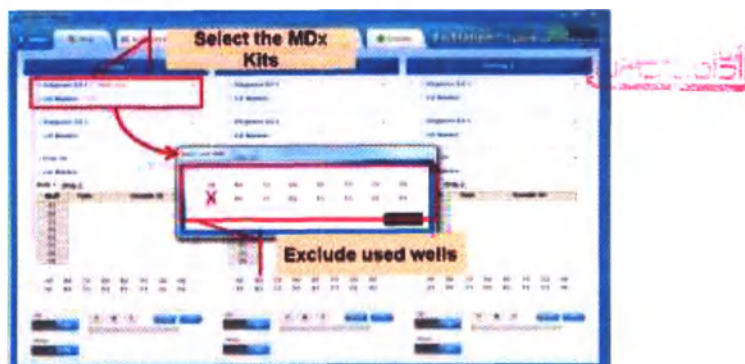
Панель управления ExiPrep 16 – Кнопки управления прибором ExiPrep 16, включая контроллер ультрафиолетового излучения, контроллер сохранения в памяти, контроллер работы, контроллер различных настроек (MISC set).

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1



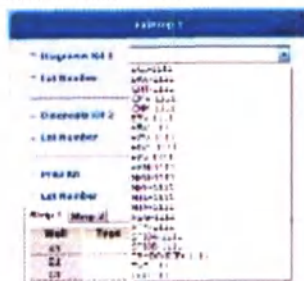
Подготовительная панель управления программного обеспечения ExiStation Manager

8) Щелкните мышью по стрелке выпадающего меню «Диагностический набор 1». Появится всплывающее окно. После выбора «Диагностического набора» появится всплывающее окно. Проверьте картридж с буфером на предмет наличия использованных ранее лунок и определите лунки, которые планируете использовать в данной постановке. Отметьте лунки, которые не будут использованы для постановки знаком креста. Выберите 'OK', чтобы закончить.



«Подготовительное» всплывающее окно программного обеспечения ExiStation Manager

9) Выберите 'HIV1111' из выпадающего меню. Соответствующий «Набор для Подготовки» для выбранного диагностического набора будет назначен автоматически.



Выбор Диагностического набора

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени АссиPower HIV-1

10) Программа автоматически назначит лунки для негативного контроля (NTC) и стандартных положительных контролей (SPC) и/или позитивных контролей (PC). Введите номер каждого лота диагностического набора и набора для пробоподготовки.

Для качественного диагностического набора программа автоматически назначает негативный контроль (контроль отсутствия матрицы) (NTC) и позитивный контроль (PC).

Для количественного диагностического набора программа автоматически назначает негативный контроль (NTC) и стандартные положительные контроли (SPC) от 1 до 5, если лот комплекта новый. Когда анализ повторяется с тем же лотом диагностического набора и набора для пробоподготовки, стандартная кривая автоматически сохраняется, и назначается только 1 LPC (низко позитивный контроль) и 1 HPC (высоко позитивный контроль) как положительные контроли.

Ввод номера лота

11) Щелкните мышью по столбцу «Идентификатор образца» 'Sample ID' и введите информацию об образце, используя устройство для считывания штрих-кода (опция) или клавиатуру.

Ввод идентификационного номера образца (Первый анализ/ Повторный анализ)

10.6 Часть 2. Экстракция нуклеиновой кислоты с помощью ExiPrep 16

1) Компания Bioneer рекомендует использовать для работы бокс микробиологической безопасности (Класс II) и чистый лабораторный шкаф при работе с приборами, объединенными в систему ExiStation.

2) Очистите поверхность (предпочтительно бокс микробиологической безопасности с положительным давлением), где будет выполняться работа.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1

Примечание: Очищайте поверхность 70% этанолом или 5% раствором азотной кислоты до и после применения, чтобы предотвратить загрязнение. После каждого применения включайте ультрафиолетовую лампу, чтобы устранить контаминацию.

Примечание: Выключайте ультрафиолетовую лампу, когда вы пользуетесь боксом микробиологической безопасности.

3) Подготовьте набор для пробоподготовки для экстракции нуклеиновой кислоты в зоне 1/ПЦР-станция 1.



No	Materials
1	Setup tray
2	Cartridge 1 and 2
3	Disposable tip rack
4	Elution tube rack
5	Disposable tip
6	Protection cover
7	6-hole punch
8	Multi punch

№/ Материалы:

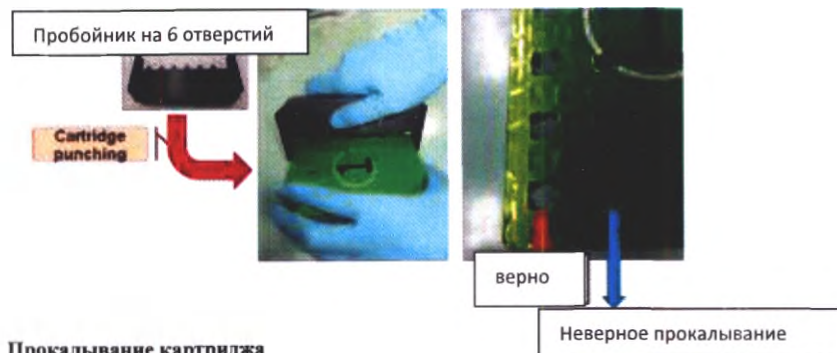
- 1- Установочный лоток (монтажная пластина), 2- Картриджи с буфером ① и ②,
- 3 -Штатив для одноразовых наконечников, 4- Штатив для пробирок для элюирования,
- 5- Одноразовый наконечник с фильтром, 6- Защитная крышка, 7- Пробойник на 6 отверстий,
- 8- Пробойник для множественных отверстий.

4) Снимите термоусадочную пленку, в которой находятся оба Картриджа с буфером ① и ②, затем снимите акриловые крышки. **Примечание:** Проверьте лунки Картриджей с буфером и удостоверьтесь, что все жидкости находятся на дне лунок.



5) Проколите пленку пробойником в соответствии со схемой, указанной в программном обеспечении.

Примечание: Поскольку неправильное прокалывание пленки может вызвать неправильное действие экстрактора нуклеиновых кислот, пленку следует прокалывать точно в соответствии с внутренней частью каждой лунки.



Прокалывание картриджа

6) Закройте Картриджи ① и ② акриловыми крышками после того, как закончили прокалывать пленку.



7) Поместите на установочный лоток (монтажную пластину).



8) Поместите необходимое число одноразовых наконечников с фильтром в штатив для одноразовых наконечников.



9) Поместите на установочный лоток.



10) Возьмите из холодильника необходимое количество пробирок с готовой смесью для амплификации HIV-1 (HIV-1 PCR Premix) из диагностического набора. Снимите фольгу, закрывающую пробирки. Вставьте необходимое количество пробирок диагностического набора (AccuPower HIV-1) в штатив для пробирок для элюирования. Мы рекомендуем маркировать каждую полоску пробирок диагностического набора соответствующим номером столбца.

Примечание: Вы ДОЛЖНЫ удостовериться, что диагностические пробирки промаркированы, чтобы их можно было идентифицировать во время процесса.

Примечание: На дне штатива для пробирок для элюирования есть прорезь, соответствующая прибору Экстрактор нуклеиновых кислот ExiPrep16. Глядя сверху, поместите его стороной с прорезью, направленной вниз, и вставьте пробирки с готовой смесью для амплификации (HIV-1 PCR Premix) в два верхних ряда.

Cut the appropriate number of PreMix strips



Load the strips at the elution tube rack and



Close the Protection cover



Отрежьте необходимое количество стрипов-полосок с пробирками (HIV-1 PCR Premix).

→ Поместите стрипы-полоски в штатив для пробирок для элюирования и откройте алюминиевую фольгу.

→ Закройте Защитную крышку.

11) Поместите на установочный лоток.

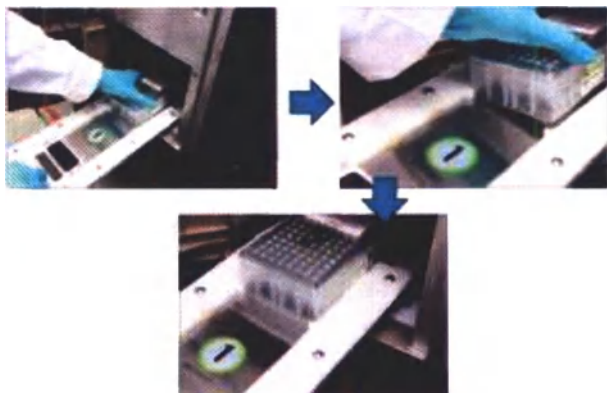


12) Поместите установочный лоток рядом с *ExiPrep 16*. Откройте дверь и выдвиньте нижнюю панель *ExiPrep16*.



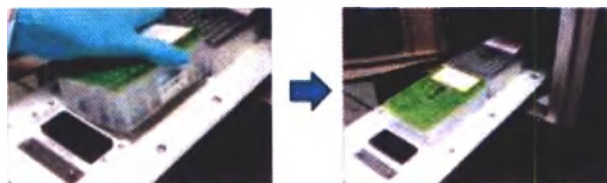
13) Поместите Картридж с буфером ② на нагревательный блок нижней панели.

Примечание: Если Картридж с буфером ② неправильно размещен на нагревательном блоке, это может привести к неудаче эксперимента или неправильной работе прибора.



14) Поместите Картридж с буфером ① на нижнюю панель.

Примечание: Помещайте Картридж ①, поставив картридж на левую сторону нижней панели и прижимая правую сторону картриджа, чтобы зафиксировать его.



15) Поставьте Штатив для пробирок для элюирования и штатив для одноразовых наконечников с фильтром на нижнюю панель.

Примечание: Проверьте, чтобы защитная крышка была правильно закреплена на штативе для пробирок для элюирования.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1



16) Проверьте статус загрузки и закройте дверь, пока прибор не начнет работать.



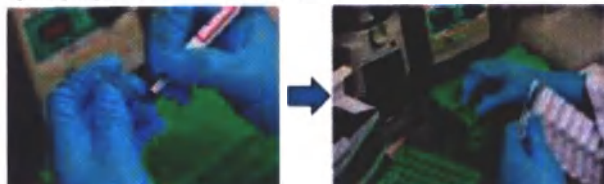
17) Подготовка клинических образцов, пробирок для загрузки образцов и контролей в боксе микробиологической безопасности. Очистите бокс микробиологической безопасности с отрицательным давлением, в котором будет выполняться подготовка экстракции нуклеиновой кислоты.

Примечание: Очищайте поверхность 70% этанолом или 5% раствором азотной кислоты до и после применения, чтобы предотвратить загрязнение. После каждого применения включайте ультрафиолетовую лампу, чтобы устранить загрязнение.

Примечание: Выключайте ультрафиолетовую лампу, когда вы пользуетесь боксом микробиологической безопасности.



18) Выньте пробирки для загрузки образцов с внутренним контролем РНК из упаковки (блистера), промаркируйте название образца и вставьте их в отверстия в штативе.



19) Возьмите оригинальные контейнеры с клиническими образцами и контроли (негативный контроль NTC и стандартные положительные контроли SPC либо позитивные контроли (HPC и LPC) и пипеткой поместите их в пробирки для загрузки образца, выполняя следующие шаги 20) ~ 23).

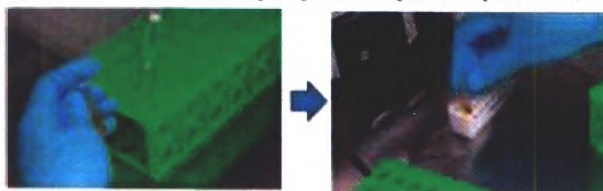
20) Добавьте 400 мкл негативного контроля NTC в пробирку, предназначенную для NTC (поставляется с диагностическим набором (набор AccuPower HIV-1).

21) Для пробирок, предназначенных для SPC 1~5 (HIV-1 стандартные положительные контроли РНК с 1-го по 5-ый), добавьте по 400 мкл каждого SPC (пробирки с зеленой пробкой) только в соответствующую лунку для каждого из пяти SPC (поставляется с диагностическим набором).

Примечание: Когда анализ повторяется с тем же лотом диагностического набора и набора для пробоподготовки, добавьте по 400 мкл низко позитивного контроля HIV-1 PC (LPC) (синяя пробка) и высоко позитивного контроля HIV-1 PC (HPC) (красная пробка) в каждую назначенную лунку.

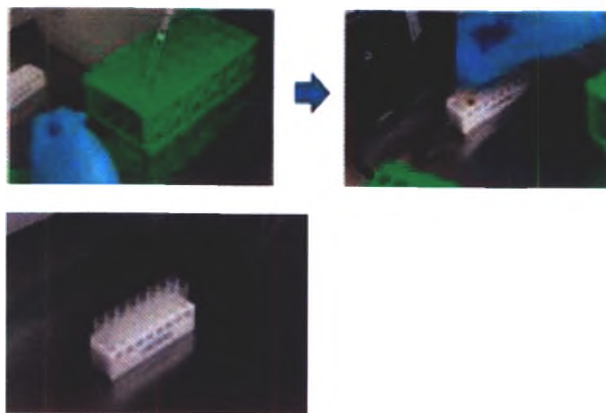
22) Вставьте наполненную пробирку для образца в штатив для пробирок с образцами.

Примечание: Вставляйте пробирки для образцов вертикально, чтобы предотвратить распыливание.



23) Снимите колпачок с оригинального контейнера с клиническим образцом и пипеткой поместите 400 мкл образца в следующую свободную пробирку для загрузки образца. Установите пробирку для загрузки образца в штатив для пробирок с образцами после того, как пипеткой поместите в нее образец.

24) Повторяйте шаги по загрузке образцов поочередно, пока не будут загружены все образцы.



25) Поместите штатив с пробирками для образцов на нижнюю панель прибора *ExiPrep* 16.



26) Поместите лоток для отходов между штативом для пробирок с образцами и Картриджем с буфером ②.
Примечание: Будьте осторожны, чтобы не опрокинуть штатив для пробирок с образцами



27) Вся подготовительная загрузка материалов завершена.



28) Снимите акриловые крышки с Картриджей с буфером.



29) Удостоверьтесь, что все принадлежности для экстракции загружены правильно.

Примечание: Удостоверьтесь, что наконечники, штативы и пробирки размещены правильно.



30) Аккуратно задвиньте нижнюю панель прибора ExiPrep 16 и закройте дверь.



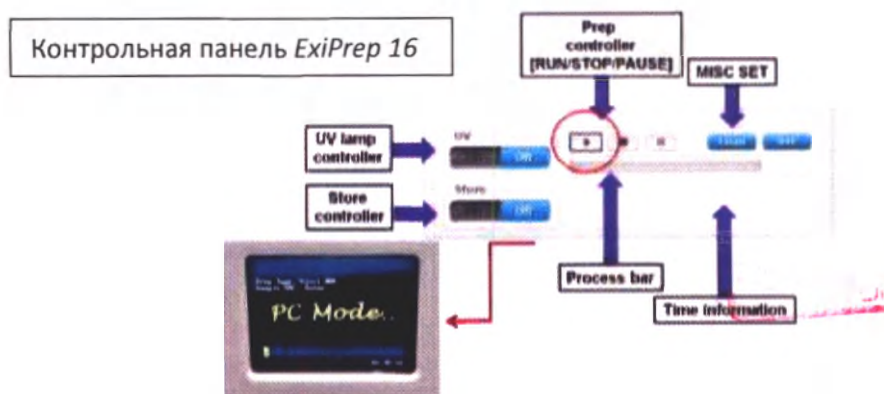
10.7 Часть 3. Запуск ExiPrep 16 и Exicycler 96 с применением системы ExiStation

1) Щелкните мышью по кнопке «ПУСК» ('RUN (▶)') программного обеспечения *ExiStation Manager*. Еще раз удостоверьтесь, что все аксессуары для экстракции загружены правильно в соответствии с планируемой постановкой в окне «Проверка загрузки ExiPrep», и проверьте ячейки, помеченные для исследования. Щелкните мышью по кнопке 'OK', чтобы начать процесс пробоподготовки.

Примечание: Процесс экстракции нуклеиновой кислоты занимает 80 - 100 минут в соответствии с типом нуклеиновой кислоты.

Примечание: Если какие-то сообщения об ошибках появляются во время процесса экстракции на жидкокристаллическом дисплее *ExiPrep16*, обратитесь в ваш местный офис компании Bioneer за технической помощью.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1



Панель управления *ExiPrep 16* включает кнопку управления прибором (RUN/STOP/PAUSE), контроллер различных настроек (MISC SET), контроллер ультрафиолетового излучения (UV lamp), контроллер сохранения в памяти (Store controller), контроллер работы (Process bar), таймер

2) После того, как процесс экстракции нуклеиновой кислоты завершен, охлаждающий блок автоматически отключается.

Откройте дверь *ExiPrep16* после того, как завершен процесс экстракции нуклеиновой кислоты, и затем выньте Штатив для пробирок для элюирования.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1



3) Переместите штатив для пробирок для элюирования в зону 2/ПЦР-бокс 2.



4) Поместите штатив для пробирок для элюирования на устройство для отделения защитной крышки.



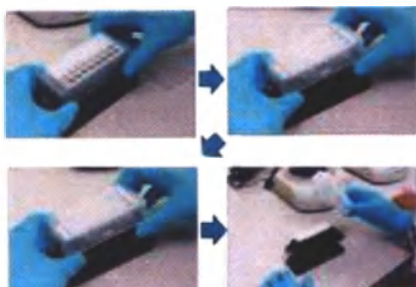
5) Используйте его, чтобы снять защитную крышку, следующим образом.

Примечание: Работайте осторожно, чтобы крышка не отскочила. Положите руки на защитную крышку и держите верхнюю часть устройства для отделения. Приложите небольшое давление пальцев рук и плавно нажмите на устройство для отделения.

Примечание: Не нажимайте на защитную крышку.

Примечание: Если покачать устройством, это помогает отделить пробирки от вставки из защитной пленки внутри защитной крышки.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1



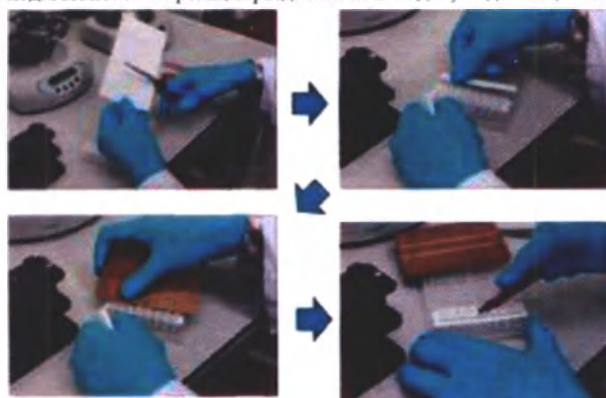
6) Переместите пробирки в 96-луночный ПЦР штатив для пробирок.



7) Заклейте диагностические пробирки с готовой смесью для амплификации HIV-1 клейкой прозрачной покрывающей пленкой.

Примечание: Во избежание контаминации и получения недействительных результатов заклейте все пробирки плотно.

Примечание: Храните заклеенные диагностические пробирки при 4°C до применения (если подготовительная реакция разделена на 2 стадии, то до конца 2-й подготовительной реакции).



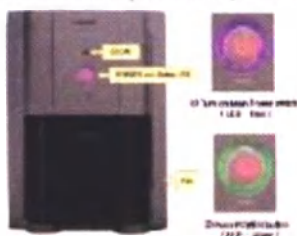
8) Непосредственно перед запуском ПЦР, полностью перемешайте содержимое пробирок, используя *Микроцентрифугу-вортекс* (параметры: 2500 об/мин в течение 1 секунды, сильное встряхивание в течение 20 секунд/ 20 циклов)

Примечание: Готовая смесь для амплификации HIV-1 (PCR-премикс) компании Bioneer содержит реагенты для ПЦР, полученные вакуумной сушкой. Недостаточное перемешивание премикса может привести к недействительным результатам исследования, поэтому перемешивайте тщательно, до полного растворения

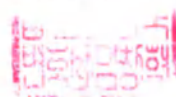
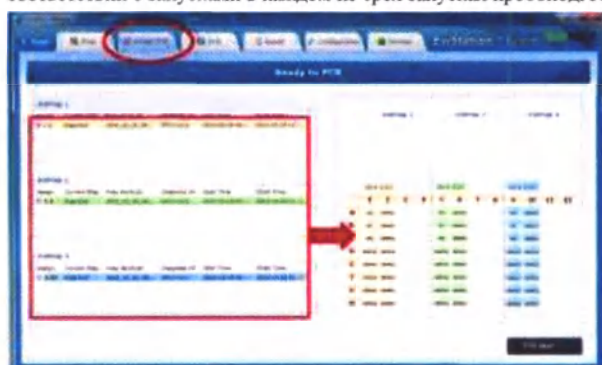
СМЕСИ.



9) Пока работает Микроцентрифуга-вортекс, включите Exicycler 96. Включите (ON) выключатель режима ожидания питания, расположенный на задней стороне инструмента. Передний кольцевой светодиодный индикатор статуса должен включиться, засветившись КРАСНЫМ СВЕТОМ. Держите нажатым передний Выключатель рабочего питания в течение 3 секунд. Начнется краткая последовательность самопроверки. Если самопроверка пройдена, то передний кольцевой светодиодный индикатор будет мигать ЗЕЛЕНЫМ СВЕТОМ с короткими звуковыми сигналами.



10) Щелкните мышью по ярлыку «Выбрать ПЦР» ('Assign PCR') и отметьте все запуски пробоподготовки из «Перечня запусков пробоподготовки», чтобы назначить ПЦР для них. Согласно выбранному в «Перечне запусков пробоподготовки» будет предписан порядок расположения ПЦР-пробирок в термоблоке в соответствии с запусками в каждом из трех запусках пробоподготовки ('ExiPrep 1/2/3') .



11) Нажимайте на кнопку открытия/закрытия двери в течение 2 секунд, чтобы 96-луночный термический блок выдвинулся наружу. Вставьте реакционные пробирки в предназначенные для них места. После того, как загрузка образца завершена, нажимайте на кнопку открытия/закрытия двери в течение 2 секунд, чтобы закрыть дверь.

Примечание: Удостоверьтесь, чтобы конфигурация загрузки образца совпадала с назначенной позицией лунки.

Примечание: Если вы используете менее 6 стрипов реакционных пробирок в данном ПЦР-исследовании, вставьте балансирующий стрип из 8 пустых реакционных пробирок на противоположной стороне термоблока (столбец 12), чтобы сбалансировать прижимное усилие нагреваемой крышки в *Exicycler* 96.

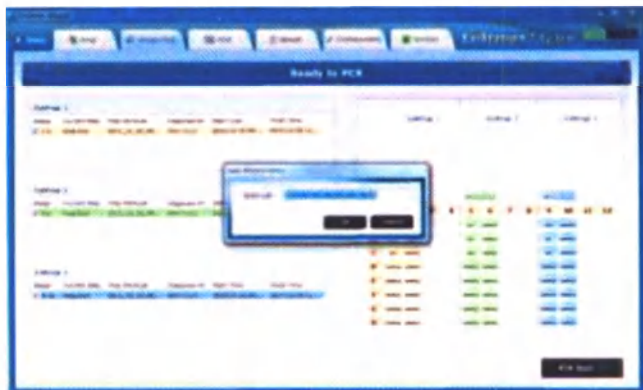
12) Поместите пробирки с перемешанной смесью для амплификации в назначенную позицию лунки *Exicycler* 96 сразу после того, как циклическая обработка на микроцентрифуге-вортексе завершена. Подробные инструкции по операциям на *Exicycler* 96 смотрите в руководстве пользователя прибора.



13) На закладке «Выбрать ПЦР» ('Assign PCR') в меню программного обеспечения *ExiStation* Manager отметьте запуски пробоподготовки с маркировкой «Готов к ПЦР» ('Ready to PCR') из «Перечня запусков пробоподготовки». Иницируйте пуск ПЦР, щелкнув мышью по активированной кнопке «Пуск ПЦР» ('PCR Start') справа внизу окна.

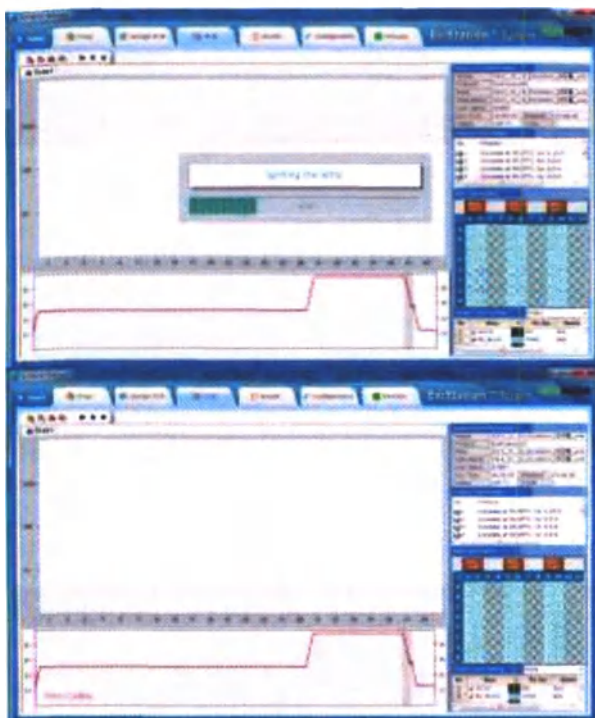
Появится всплывающее окно, предлагающее пользователю ввести Имя файла данных исследования. Щелкните мышью по 'ОК' после введения имени, чтобы начать исследование ПЦР с детекцией в режиме реального времени.

Примечание: Путь к файлу данных по умолчанию: 'C:\> ExiStation_Data > user > GUEST > WorkList'



14) После ввода имени файла данных будет активирована закладка «ПЦР» ('PCR'), и *Exicycler* 96 автоматически начнет выполнение ПЦР.

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AssiPower HIV-1



15) Выньте все расходные материалы и компоненты, начиная с Картриджей с буфером и различных штативов, из прибора ExiPrep 16 и слейте все жидкости и расходные материалы в соответствующие контейнеры для отходов.

Примечание: Если в буферных картриджах есть неиспользованные лунки, возьмите ткань, не содержащую ворса или смоченную 70% этанола, и протрите пленочную поверхность картриджей. Установите акриловые крышки на место на картриджи с буфером и держите их в боксе микробиологической безопасности (BSC) до последующего применения.

Примечание: Закройте использованные буферные картриджи акриловыми крышками и утилизируйте их в соответствии с местными правилами безопасности согласно требованиям к обращению с медицинскими отходами.

16) Нажмите кнопку «Различные настройки» ('Misc Set'), снимите защитную пластину и защитный экран, и затем снова нажмите кнопку «Различные настройки» ('Misc Set').

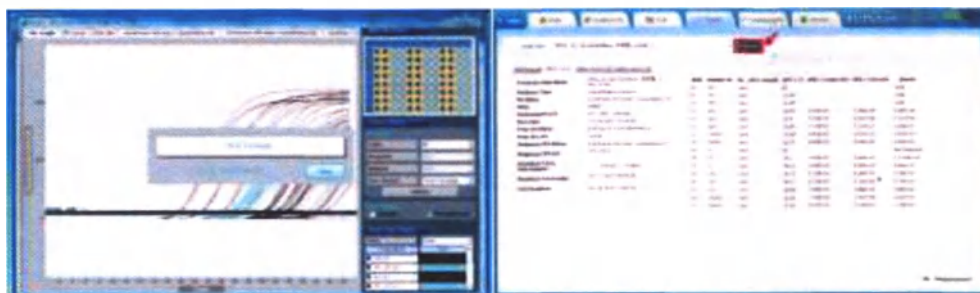
17) Задвиньте нижнюю панель на место, закройте дверь прибора и начните ультрафиолетовую стерилизацию, нажав кнопку «Ультрафиолет включен» ("UV ON") на панели управления.



Панель управления ExiPrep 16 - ультрафиолет

18) После того, как выполнение реакции ПЦР закончено, выберите ярлык «Результат» ('Result'), чтобы проверить результаты для каждого образца.

Примечание: Щелкните мышью по кнопке «Анализ» ('Analysis'), чтобы открыть предназначенное всплывающее окно анализа, которое представляет подробные результаты, включая график флуоресценции.



Анализ результата с применением программного обеспечения ExiStation Manager

19) Файлы данных результатов сохраняются в папке 'C: > ExiStation_Data > user > GUEST > WorkList >

10.8 Анализ данных

В тесте используется 1 лунка негативного контроля NTC, далее по тексту NTC, и 5 лунок стандартных положительных контролей РНК (HIV-1 SPC1~5) для определения действительности эксперимента и возможности количественного определения РНК вируса ВИЧ-1. Каждое исследование включает постановку негативного контроля (NTC), стандартных положительных контролей SPC1~5 или положительных контролей LPC и НРС, внутреннего положительного контроля IPC.

NTC: для того, чтобы исключить контаминацию образца в процессе пробоподготовки, экстракции нуклеиновой кислоты и подготовки запуска ПЦР (предотвращение ошибки - ложного положительного результата).

SPC 1~5: для того, чтобы определить количество РНК вируса ВИЧ-1 (чтобы генерировать действительную стандартную кривую для количественной оценки, должны быть зачтены более трех стандартных положительных контролей)

LPC, НРС: положительные контроли для подтверждения прохождения пробоподготовки и ПЦР.

IPC: для того, чтобы исключить ингибирование ПЦР, и подтвердить амплификацию нуклеиновых кислот в каждой лунке. Высокие концентрации РНК ВИЧ-1 могут привести к уменьшению или отсутствию сигнала флуоресценции внутреннего положительного контроля (IPC) из-за конкурентной ПЦР.

Действительность IPC определяется значением уровня Ct сигнала IPC. Если значение Ct находится в заданном диапазоне, то он действителен. Если значение Ct за пределами заданного диапазона, то он недействителен. Действительность HIV-1 SPC1~5 и NTC определяется значением Ct сигнала HIV-1 (ВИЧ-1). Если анализ действителен, то в лунке негативного контроля (NTC), Ct (HIV-1) будет указано: «неопределен», а значение Ct каждого стандартного положительного контроля (SPC) будет в установленном для него диапазоне. Если результаты контроля недействительны, примите меры в соответствии с Инструкцией – п. 9. Поиск и устранение неисправностей.

Результат внутреннего положительного контроля (IPC) определяет действительность теста, а значение Ct сигнала HIV-1 определяет концентрацию РНК вируса ВИЧ-1 в образце (в МЕ/мл и в Копиях/мл). Если необходимо получить количественные результаты выше количественного диапазона, то оригинальный образец следует разбавить буфером SL, который прилагается в наборе, и повторить тест.

11. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Комментарии и предложения	
Недействительные результаты внутреннего положительного контроля (IPC)	
Если сигнал флуоресценции TAMRA (IPC) (тетраметилпродамина) (внутренний положительный контроль) не был распознан во всех лунках (включая контроли)	Ошибка экстракции и/или конфигурации ПЦР ☞ Удостоверьтесь, что правильный протокол экстракции/ ПЦР был запрограммирован и выполнен в соответствии с используемыми наборами. Повторите анализ, если необходимо. Смотрите Инструкцию п.10. ПРОТОКОЛ Неправильная экстракция или использование ПЦР ☞ Удостоверьтесь, что вы пользуетесь правильными наборами для предназначенных тестов Набор мог испортиться из-за неправильного хранения или истечения срока годности. ☞ Оцените ваши условия хранения и проверьте дату окончания срока годности. Повторите анализ с новыми реагентами, если необходимо. Смотрите Инструкцию п.5. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ
Если сигнал флуоресценции TAMRA (IPC) (тетраметилпродамина) (внутренний положительный контроль) не был распознан в отдельных лунках	Ингибирование ПЦР ☞ Клинические образцы могут содержать различные ингибиторы ПЦР. Повторите анализ, начиная от процесса предварительной обработки образца, который может уменьшить ингибирование цепной реакции полимеразы (PCR). ☞ Удостоверьтесь, что вы используете утвержденный метод предварительной обработки образца в соответствии с типом образца. Малый объем элюирования из-за нерастворимого материала образцов ☞ На получаемое количество нуклеиновой кислоты может влиять состояние образца (вязкость и т.д.). Повторите анализ, начиная от процесса предварительной обработки образца, что может сделать образец более растворимым.

Недействительные результаты SPC (стандартного положительного контроля) /PC (положительного контроля)	
Если сигнал флуоресценции FAM (SPC) (FAM (стандартный положительный контроль)) был не определен.	Набор мог испортиться из-за неправильного хранения или истечения срока годности. ☞ Оцените ваши условия хранения и проверьте дату окончания срока годности. Повторите анализ с новыми реагентами, если необходимо. Смотрите Инструкцию п. 5. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ Повторное использование реагентов ☞ Удостоверьтесь, что реагенты не используются повторно. Повторное использование или повторные циклы замораживания /размораживания реагентов могут повлиять на качество набора и, в конечном счете, на результаты анализа. Повторите анализ с новыми реагентами, если необходимо. Смотрите Руководство пользователя 5 СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, 7. Общие меры предосторожности. Ошибка в протоколе ПЦР ☞ Пересмотрите вашу процедуру подготовки реакции. Подтвердите количество стандартного положительного контроля (SPC), используемое в одной лунке. Смотрите Инструкцию п. 10.5 Назначение теста Могла быть ошибка при наборе пипеткой. ☞ Пересмотрите технику набора пипеткой и калибровку.
Недействительные результаты негативного контроля (NTC)	
Если сигнал флуоресценции FAM был определен в лунке NTC (контроль без шаблона).	Могла произойти контаминация. ☞ Удостоверьтесь, что рабочее пространство и инструменты очищены от загрязнения, и повторите анализ. Набор мог испортиться из-за неправильного хранения или истечения срока годности. ☞ Оцените ваши условия хранения и проверьте дату окончания срока годности. Повторите анализ с новыми реагентами, если необходимо. Смотрите Инструкцию п.5. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ Ошибка в протоколе ПЦР ☞ Пересмотрите вашу процедуру подготовки реакции. Удостоверьтесь, что контроли и образцы загружены в правильные лунки, которые предназначены в соответствии с протоколом (особенно лунка для негативного контроля (NTC)). Смотрите Инструкцию п. 10. ПРОТОКОЛ Могла быть ошибка при наборе пипеткой. ☞ Пересмотрите технику набора пипеткой и калибровку.

12. ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Предел обнаружения набора реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1 (для «in vitro» диагностики) составляет для подтипа В 1.52 Log₁₀ IU/ml (95% CI 1.39-1.65 Log₁₀ IU/ml).

12.2 Предел обнаружения подтипа

Для группы М (субтипы А, С, D, F, G, H, CRF01 AE, CRF01 AG), группы N и группы О набор AccuPower HIV-1 способен обнаруживать РНК HIV-1 в ЭДТА плазме при концентрации от 1.54 Log₁₀ IU/ml с коэффициентом позитивности, превышающим или равным 95%.

12.3 Линейный диапазон и предел количественного определения (LoQ)

12.3.1 Диапазон линейности

Диапазон линейности набора AccuPower HIV-1 для субтипа В составлял 1,70 ~ 8,00 Log₁₀ IU/ml, а для субтипов А, С, D, F, G, CRF AE, CRF AG, H – 1,70 ~ 3,00 Log₁₀ IU/ml. На основании субтипа В было установлено, что предельная разница каждого из линейных уравнений для соответствующего субтипа не превышала 0,2 Log₁₀ IU/ml, и линейность каждого из субтипов была одинаковой.

Линейность набора AccuPower HIV-1 составляет 1,70 ~ 8,00 Log₁₀ IU/ml.

12.3.2 Предел количественного обнаружения (LoQ)

Результаты исследования показывают, что Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1 (для «in vitro» диагностики) способен обнаруживать все 11 субтипов HIV-1 (А, В, С, D, F, G, CRF AE, CRF AG, H, N, О) в плазме с ЭДТА при концентрации не ниже 1,70 Log₁₀ IU/ml.

12.4 Частота отказов системы

Все тесты показали 100% положительный результат, указывая, что набор AccuPower HIV-1 работает стабильно с нулевой частотой отказа.

12.5 Повторяемость

Наибольшая межсерийная погрешность (Sr) составила 0,29, наибольшая внутрисерийная погрешность (Srr) составила 0,14; наибольшая погрешность в пределах одного дня (Sdd) составила 0,11, наибольшая общая погрешность (ST) - 0,34.

12.6 Воспроизводимость

Наибольшее стандартное отклонение воспроизводимости составило: в пределах партии - 0,32, между местами выполнения - 0,30, между операторами - 0,31 и между приборами - 0,30.

12.7 Испытание интерферирующих веществ

Ни одна из исследованных концентраций веществ, потенциально искажающих результаты, не оказала влияния на производительность Набора реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1 (для «in vitro» диагностики) при концентрации HIV-1, равной 3X LOD.

№	Вещество, потенциально искажающее результаты анализа	Концентрация (мкг/мл)
Экзогенные		
1	Ацикловир	9.80
2	Ставудин	0.68
3	Энфувиртид	8.60
4	Тенофир	0.33
5	Ципрофлоксацин	5.40

№	Вещество, потенциально искажающее результаты анализа	Концентрация (мкг/мл)
6	Невирапин	2.40
7	Нельфинавир	4.80
8	Саквинавир	5.21
9	Ритонавир	14.80
10	Абакавир	3.89
11	Рибавирин	3.57
12	Ламивудин	1.20
13	Индинавир	11.84
14	Валганцикловир	7.13
15	Эфавиренц	4.07
16	Зидовудин	2.29
17	Ампренавир	7.66
Эндогенные		
1	ЭДТА	540 мг/дл
2	Цитрат	0.327 М
3	Гепарин	3 кЕ/дл
4	Гемоглобин	200 мг/дл
5	Холестерин	500 мг/дл
6	Альбумин	5 г/дл
7	Билирубин	25 мг/дл

12.8 Перекрестная реактивность

По результатам исследования не обнаружено перекрестной реактивности соответствующих патогенов со способностью обнаружения HIV-1 с учетом чувствительности и количественной оценки.

Патоген	Концентрация образцов
Вирус гепатита А	100 ген. экв./мл
Вирус гепатита В	4,25E+04 IU/ml
Вирус гепатита С	5,00E+03 IU/ml
Вирус Эпштейна — Барр	2,50E+05 IU/ml
Цитомегаловирус	2,50E+05 IU/ml
Вирус папилломы человека 16	2500 cell/mL
Вирус папилломы человека 18	2500 cell/mL
ВК вирус, Полиомавирус человека	6,70E+02 eq- gen/ml
Вирус простого герпеса 1	0,165 IV
Вирус простого герпеса 2	0,165 IV
Вирус ветряной оспы	1,80E+02 mIU/L
Лихорадка Западного Нила	0,18 IgG
Вирус Зика	32,03 Ct
Вирус герпеса человека 6 типа	25,6 IgG
Вирус герпеса человека 8	25,6 IgG
HIV-2	50 IU/ml
Аденовирус 5 типа	0,25 ng/rxn
Вирусы денге 1 типа	5,00E+06 copy/ml
Вирусы денге 2 типа	5,00E+06 copy/ml
Вирусы денге 3 типа	5,00E+06 copy/ml
Вирусы денге 4 типа	5,00E+06 copy/ml
Вирус гриппа А (H1N1)	0,25 ng/rxn

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВИЧ-1 в плазме крови методом ПЦР в реальном времени AccuPower HIV-1

Патоген	Концентрация образцов
Вирус гриппа А(Н3N2)	0,25 ng/gxn
Mycobacterium gordonae	93,16 AU/mL
Золотистый стафилококк	0,25 ng/gxn
HIV-2	1000IU/ml
HTLV	Позитивный иммуноанализ p19-I/II, gp46, gp21, p19-I, gp46-I

13.Стабильность

13.1 Исследование стабильности хранения

Протокол

Материал: Международный стандарт ВОЗ, 3 группа HIV-1, код NIBSC: 10/152 (5.27 Log10 IU/мл, подтип В) (3 последовательные разведения 1x10³, 1x10², 5x10¹ копии/мл в ЭДТА-плазме), HIV-1 SPC(1) - SPC(5) (в составе набора).

Интервал: каждый месяц в течение 13 месяцев с даты производства.

Набор AccuPower HIV-1 (3 партии: 16020121C, 16040121C, 16060121D)

Оборудование: Exicycler 96 Прибор для проведения полимеразной цепной реакции (EXI-05M-1003006, EXI-05M-1003022).

Критерии приемлемости

Образец	Приемлемое значение
SPC (S5)	Ct : 18.5 ~ 22.5
SPC (S4)	Ct : 21.8 ~ 25.8
SPC (S3)	Ct : 25.1 ~ 29.1
SPC (S2)	Ct : 28.4 ~ 32.4
SPC (S1)	Ct : 31.7 ~ 35.7
3,00 Log10 IU/ml	2,30 ~ 3,70 Log10 IU/ml
2,00 Log10 IU/ml	1,30 ~ 2,70 Log10 IU/ml
1,70 Log10 IU/ml	1,00 ~ 2,40 Log10 IU/ml

На основании результатов исследования стабильности в реальном времени на протяжении 13 месяцев была подтверждена ТАЕ (Общая аналитическая ошибка), которая не превышает 0,43 Log10 IU/мл. Наклон линии регрессии был определен как незначительный (p≥0,05). Значение Ct для SPC и количественной оценки образца соответствует приемлемым значениям.

Таким образом, набору присвоен срок годности 12 месяцев.

13.2 Исследование симуляции транспортировки

Исследование симуляции транспортировки проводили, чтобы определить, влияет ли окружающая среда при доставке на стабильность набора. Три лота (серии) наборов доставили (в соответствии с надлежащим процессом доставки) в три разных региона внутри страны и вернули в компанию Bioneer для исследования. Понадобилось 2 - 3 дня для возврата в компанию Bioneer со дня отправки. Характеристики возвращенных наборов определяли и сравнивали с наборами, которые хранились в компании Bioneer (при -15~-25°C). На основании этих исследований подтвердили стабильность при транспортировке набора AccuPower HIV-1 в условиях местной доставки при температуре -15 ~ -25°C.

14 Клиническая оценка

Клиническую оценку набора AccuPower HIV-1 выполняли на 418 клинических образцах (398 положительных образцов, 20 отрицательных образцов). Диагностическая чувствительность составила 99,75%, специфичность - 100 %.

15 ПЕРЕЧЕНЬ МЕЖДУНАРОДНЫХ ДОКУМЕНТОВ/СТАНДАРТОВ.

Номер документа	Название документа
EN ISO13485 :2012	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Регламентирующие требования (ISO 13485:2003)
Директива 98/79/EU	Директива ЕС ЕВРОПЕЙСКОГО ПАРЛАМЕНТА И СОВЕТА от 27 октября 1998 года по медицинским средствам для лабораторной диагностики in vitro
EN ISO 15223-1	Изделия медицинские. Символы применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации
ISO14971:2012	Изделия медицинские. Анализ рисков (ISO 14971:2007, исправленная редакция 2007-10-01)
EN 13640: 2002	Тестирование стабильности медицинских изделий (реагентов) для in vitro диагностики
EN 13612:2002	Оценка эффективности медицинских изделий для in vitro диагностики
EN 13975 :2003	Процедуры отбора проб, используемые для приемочных лабораторных испытаний медицинского диагностического оборудования - статистические аспекты
EN ISO 18113-2:2011	Медицинские изделия диагностические in vitro. Информация, поставляемая производителем (маркировка). Часть 2. Диагностические профессиональные реактивы in vitro
EN13641:2002	Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro
EN ISO 15193:2009	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Требования к описанию референтных методик выполнения измерений
EN ISO 15194:2009	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Требования к аттестованным стандартным образцам и содержанию сопроводительной документации
EN ISO 17511:2003	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам
EN 62366:2008	Medical devices. Application of usability engineering to medical devices Аппаратура медицинская. Использование технологий по применимости к медицинской аппаратуре
MEDDEV/2.12-1/R8	Пересмотр 8. Руководство по системе активного мониторинга (надзора) медицинских изделий
NB-MED/2.5.1/R5	Техническая документация
ГОСТ Р 56894-2016/GHTF/SG1N06 3:2011	Сводный комплект технической документации для демонстрации соответствия общим принципам обеспечения безопасности и основных функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro

16 ССЫЛКИ

Maskay IM. (Маккей И.М.) (2004) Полимеразная цепная реакция (PCR) в реальном времени в микробиологической лаборатории. Clin. Microbiol. Infect. (Клиническая микробиология и инфекции)

10:190-212

Erali M, Hillyard DR. (Эрали М., Хиллиард Д.Р.) Оценка анализа со сверхчувствительным монитором Roche Amplicor HIV-1 monitor assay для количественного определения РНК вируса человеческого иммунодефицита типа 1. J Clin Microbiol. (Журнал клинической микробиологии) 1999;37:792-5.

Fauci AS and Lane HC. (Фауси А.С. и Лейн Х.С.) Заболевание, вызванное вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ): СПИД и связанные с ним расстройства. В: Fauci AS, Braunwald E, et al. (Фауси А.С., Браунвальд И., редакторы. Принципы Харрисона во внутренней медицине. 14-е издание. Нью-Йорк: Мак-Гроу Хилл Компани, Инк., 1998:1791-856.

Hashida S, Hashinaka K, Iihikawa S, Iihikawa E. (Хашида С., Хашинака К., Ихикава С., Ихикава И.) Более надежный диагноз инфицирования вирусом иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) путем выявления антител IgGs к протеинам pol и gag ВИЧ-1 и антигена p24 ВИЧ-1 в моче, слюне, и/или сыворотке при помощи высокочувствительного и специфичного энзимного иммуноанализа (энзимный иммуноанализ переноса иммунного комплекса): обзор. J Clin Lab Anal (Журнал клинической лабораторной аналитики) 1997;11: 267-86.

Hashida S, Hashinaka K, Nishikata I, Oka S, Shimada K, Saito A, et al. (Хашида С., Хашинака К., Нишиката И., Ока С., Ширнада К., Саито А. и др.) Сокращение оконного периода при диагностике инфекции ВИЧ-1 путем одновременного выявления антигена p24 и антитела IgG к p17 и обратной транскриптазы в сыворотке путем ультрачувствительного энзимного иммуноанализа. J Virol Methods (Вирусологические методы) 1996;62: 43-53.

Highbarger HC, Alvord WG, Jiang MK, Shah AS, Metcalf JA, Lane HC, Dewar RL. (Хайббергер Х.С., Олворд У.Г., Жианг М.К., Шах А.С., Меткалф Дж.А., Лейн Х.С., Дьюар Р.Л.) Сравнение анализа Quantiplex версия 3.0 и анализа с применением чувствительного монитора Amplicor для измерения уровней РНК вируса иммунодефицита человека типа 1 в образцах плазмы. J Clin Microbiol (Журнал клинической микробиологии) 1999;37:3612-4.

17 ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер в каталоге		Ограничение температуры
	Диагностическое медицинское изделие для исследований <i>in vitro</i>		Содержит достаточно для тестов
	Производитель		Осторожно, проконсультируйтесь в сопровождающих документах

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса ВПЧ-1 в плазме крови
методом ПЦР в реальном времени AssiPower HPV-1



Код партии



Срок годности



Не использовать
повторно



Проконсультируйтесь в
инструкциях по
использованию



Предупреждение
Осторожно

18 УПОЛНОМОЧЕННЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

Общество с ограниченной ответственностью "ЛАБТРОНИКА"

ООО "ЛАБТРОНИКА"

адрес: 119048, г. Москва, ул. Усачева, д.2, стр.1

19 ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

"Бионир Корпорейшн" (Bioneer Corporation)

8-11, Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon 34302, Republic of Korea

(Республика Корея)

Тел.: 82-42-930-8777

Факс: 82-42-930-8677

ds@bioneer.com

92461

등부 2020 년 제8941호

Registered No. 2020 - 8941

인 증

Notarial Certificate

위 서류 에 기재된 촉탁인

(주) 바이오니아 대표이사 박한오 의

대리인 이정은 은 본 공증인의

면전에서 위 촉탁인 본인이 서명

날인 하였다고 자인하였다.

2020 . 08 . 06 . 이 사무소에서

위 인증한다.

Jeongeun Lee

attorney - in - fact of
CEO & President: Han Oh, Park

Bioneer Corporation

appeared before me and
admitted said principal's
subscription to the attached

DOCUMENT

This is hereby attested on
this 06th day of August
2020. at this office.

공 증 인 가 법 무 법 인 청 남 로
소 속 대 전 지 방 검 찰 청
대전광역시 서구 둔산로137번길35(둔산동)

CHEONGNAM LAW & NOTARY OFFICE

Belong to Dae Jeon District Prosecutor's Office

35, Dunsan-ro 137beon-gil, Seo-gu, Daejeon, 302-831 KOREA

공증담당변호사

본 사무소는 법률 제 168 호에 의하여
법무부장관으로부터 공증인 업무를 행할 것을
인가 받았다.

Attorney at law acting as Notary Public YIM CHANG HYEONG

This office has been authorized by
the Minister of Justice, the Republic
of Korea to act as Notary Public
since 07 th day of February 2020 under
Law No. 168

210mm×297mm

(인쇄용지(특급) 70g/m²)

[форма приложения № 41]

ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ ОФИС ЧХОННАМ

Регистрационный № 2020 – 8941

НОТАРИАЛЬНОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ ОФИС ЧХОННАМ

35, ДУНСАН-РО, 137БЕОН-ГИЛЬ, СЕО-ГУ, ТЭДЖОН 302-831 Корея

Рельефная печать: ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ ОФИС ЧХОННАМ *
ТЭДЖОН КОРЕЯ * ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НОТАРИУС

/Текст на русском языке/
/фрагмент квадратной печати нотариуса/

Утверждено
Печать: БИОНИР КОРПОРЕЙШН
[подпись]
(Подпись)
Хан-О Парк
(Имя ответственного лица)

<Логотип: БИОНИР
Инновация • Ценность • Открытие>

/Текст на русском языке/

/фрагмент квадратной печати нотариуса на каждой странице документа/

Оттиск печати: ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ
ОФИС ЧХОННАМ * ТЭДЖОН КОРЕЯ *
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НОТАРИУС

ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ ОФИС ЧХОННАМ

Регистрационный № 2020-8941

НОТАРИАЛЬНОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

Чонгын Ли
поверенный

Генерального директора и Президента: Хан-О Парка (Han Oh Park),
Бионир Корпорейшн,
явился ко мне и
подтвердил подлинность подписи
вышеуказанного доверителя на прилагаемом
ДОКУМЕНТЕ

Настоящее засвидетельствовано
06 августа 2020 года в этом офисе.

/фрагмент квадратной печати нотариуса/

ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ ОФИС ЧХОННАМ
относится к районной прокуратуре Дэ Чон
35, Дунсан-ро, 137беон-гиль, Сео-гу, Тэджон 302-831 КОРЕЯ

[подпись]

Юрист, действующий в качестве нотариуса ЙИМ ЧАНГ ХЁ
Настоящий офис был уполномочен
Министром юстиции Республики Корея
выполнять нотариальные действия с
07 февраля 2020 года в соответствии
с Законом № 168

Квадратная печать нотариуса: Юридическая фирма и нотариальный офис Чхоннам * Йим
Чанг Хё * Нотариус

Оттиск печати: ЮРИДИЧЕСКАЯ ФИРМА И НОТАРИАЛЬНЫЙ
ОФИС ЧХОННАМ * ТЭДЖОН КОРЕЯ *
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НОТАРИУС

210мм X 297мм
(бланк для печати (экспресс) 70 г/м²)

Перевод данного текста выполнен переводчиком Пахтуновым Алексеем Владимировичем

Российская Федерация

Город Москва

Двадцать второго октября две тысячи двадцатого года

Я, Милевская Анна Анваровна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Дударева Александра Владимировича, свидетельствую подлинность подписи переводчика Пахтунова Алексея Владимировича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/178-н/77-2020-23-1524

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 300 руб. 00 коп.



Handwritten signature of A. A. Milevskaya

А. А. Милевская

Всего прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью 44 лист(-а,-ов).

ВРИО нотариуса:

Handwritten signature of the acting notary

