

КОПИЯ
ВЕРНА

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

12.08.2022



А.В. Ходяков

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ДНК ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ
ЧЕЛОВЕКА ВЫСОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА МЕТОДОМ ПЦР С
ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»
(AMPLITECH HPV ST (R))

Краткое руководство версии 11.07.22

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Заместитель генерального директора по
науке ООО «Амплитек»

А.С. Коновалов
11.07.2022

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»

Д.А. Бурдачёва
11.07.2022

Amplitech HPV ST (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV ST (R))

КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО

IVD

REF P012-0

LOT xxxx

Σ 48

ВНИМАНИЕ! Перед использованием набора необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов) в биологическом материале человека, полученном в рамках профилактического ВПЧ-скрининга, диспансерного мониторинга пациентов с ВПЧ-инфекцией, диагностики ВПЧ-инфекции при онкопатологии шейки матки и при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы у женщин. Определение и генотипирование ДНК ВПЧ ВКР с помощью набора проводится методом ПЦР с тибридикационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* ВПЧ-инфекции, вызываемой 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типами ВПЧ (выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов).

Набор может применяться в клинко-диагностических лабораториях.

ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

- Мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса), помещённые в транспортную среду, не предназначенную для жидкостной цитологии;
- Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса), помещённые в среду для жидкостной цитологии.

РЕАГЕНТЫ

Реагент	Внешний вид	Меры предосторожности
Смесь HPV ST (R)-1	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок	Реагенты содержат азид натрия в концентрации не более 0,05 % веществ, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.
Смесь HPV ST (R)-2	Гель от бесцветного до светло-лилового цвета на дне пробирок	
ОК ПК HPV ST	Прозрачная бесцветная жидкость	

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК, ПОДГОТОВКА И ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР И ДЕТЕКЦИИ

Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции

Экстракцию ДНК и внесение образцов экстрагированной ДНК в пробирки с реакционными Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2 провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции ДНК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек»). **ВНИМАНИЕ!** Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

- 1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ОК и ПК HPV ST и осадить капли на вортексе.
- 2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-ВПЧ (R)» и внести в него исследуемые образцы¹ и контроли согласно инструкции по его применению.
ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК HPV ST не менее чем в одном повторе.
- 3 Установить на рабочий стол автоматической станции картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, а также расходные материалы, входящие в состав набора «ДНК-ВПЧ (R)», согласно руководству по эксплуатации станции.
- 4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

Ряд	Вид смеси	Столбцы											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	HPV ST (R)-1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	HPV ST (R)-1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	HPV ST (R)-1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	HPV ST (R)-1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Рисунок 1 - Схема планшета с реагентами

- 5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.
Примечание – После снятия защитной плёнки использовать реагенты в течение 24 ч.
- 6 Установить отрезанные пробирки со Смесями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.
ВНИМАНИЕ! Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.
- 7 Запустить выполнение следующих протоколов согласно руководству по эксплуатации станции «Amplitech E1»:
а) протокола экстракции ДНК с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «ДНК-ВПЧ (R)»;
Примечание – В протоколе указать объём элюции, равный от 100 до 200 мкл. В случае одновременного запуска протоколов экстракции и подготовки к проведению ПЦР объём элюции не требует ручного ввода, так как уже включён в протокол подготовки к проведению ПЦР.
б) протокола подготовки к проведению ПЦР с использованием штрих-кода для протокола, указанного ниже.

¹ Для соскобов эпителия в транспортной среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно инструкции по применению набора для проведения экстракции.



HPVSTR011E0422506

- 8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV ST (R)». Элюат, внесённый в пробирки, содержит полученную в процессе экстракции ДНК.

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

- 9 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной ниже.

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	—	1
2	95	2 мин	—	1
3	95	10 с	—	42
	60	20 с	FAM, R6G ² , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.

2) При одновременном проведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.

- 10 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции

- 1 Провести экстракцию ДНК (с применением автоматической или ручной методики) с использованием набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объёме от 100 до 200 мкл.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК HPV ST не менее чем в одном повторе. Перед использованием контролей перемешать их и осадить капли на вортексе.

- 2 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

- 3 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки использовать реагенты в течение 24 ч.

- 4 Для удобства внесения образцов ДНК рекомендуется установить отрезанные пробирки в штатив для ПЦР-планшетов.

- 5 Внести в подготовленные пробирки по 20 мкл образцов ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК HPV ST).

ВНИМАНИЕ! Каждый образец ДНК вносится в две пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2).

ВНИМАНИЕ! При внесении ДНК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

- 6 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха.

- 7 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV ST (R)».

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

- 8 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной ниже.

² Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	42
	60	20 с	FAM, R6G ³ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

- 1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.
- 2) При одновременном проведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.

9 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ. ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

- 1 Учёт и интерпретация результатов осуществляется в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения «Amplitech HPV ST soft». Порядок работы с программным обеспечением описан в руководстве оператора по его применению.
- 2 ПО «Amplitech HPV ST soft» выдаёт рассчитанные значения концентрации ДНК ВПЧ ВКР (концентрацию ДНК ВПЧ определённого типа и/или суммарную вирусную нагрузку всех выявленных типов ВПЧ) в Ig (копий ДНК ВПЧ ВКР/10⁴5 клеток человека).
- 3 Если генотипирование выявленной ДНК ВПЧ с использованием набора затруднено, то в описании результата добавляется фраза «Рекомендуется генотипирующее исследование». В этом случае рекомендуется, при необходимости, проводить дополнительное генотипирование ВПЧ с использованием набора реагентов «Amplitech HPV GT (R)» или аналогичного набора реагентов для проведения генотипирования ВПЧ ВКР.
- 4 Рекомендации по устранению возможных ошибок в процессе проведения исследования указаны в таблице, приведённой ниже.

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Невалидный ПК HPV ST	Некорректное проведение экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Контаминация ОК	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ПК HPV ST	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ОК	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО	
Недостаточно материала для анализа	Нарушения при взятии и/или хранении биоматериала. Некорректное проведение экстракции ДНК. Наличие в образце ингибиторов ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.

³ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

6

лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплитек»

Подпись

А.В. Ходяков



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»


_____ А.В. Ходяков
12.08.2022



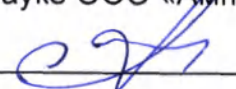
ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ НАБОРА
РЕАГЕНТОВ «AMPLITECH HPV ST (R)»
AMPLITECH HPV ST SOFT

Руководство оператора версии 11.07.22

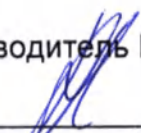
Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

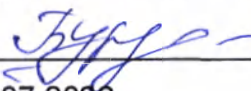
Заместитель генерального директора по
науке ООО «Амплитек»


_____ А.С. Коновалов
11.07.2022

Руководитель ГРПО ООО «Амплитек»


_____ К.Ю. Анисимов
11.07.2022

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»


_____ Д.А. Бурдачёва
11.07.2022

Amplitech HPV ST soft

Программное обеспечение набора реагентов «Amplitech HPV ST (R)»

РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

IVD

2022

АННОТАЦИЯ

Настоящий документ версии 11.07.22 представляет собой руководство оператора по применению программного обеспечения набора реагентов «Amplitech HPV ST (R)»: «Amplitech HPV ST soft» версии 1.0 (далее – ПО). ПО предоставляется пользователю бесплатно в электронном виде на официальном сайте производителя (<http://www.amplitech.ru/resources/>).

В данном программном документе указаны:

- в разделе «Назначение программы» сведения о функциональном назначении ПО,
- в разделе «Принцип работы» краткое описание принципа работы ПО,
- в разделе «Условия выполнения программы» перечень технических и программных средств, необходимый для функционирования ПО,
- в разделе «Выполнение программы» последовательность действий оператора для загрузки и запуска, выполнения функций, завершения работы и удаления ПО,
- в разделе «Сообщения оператору» системные сообщения, выдаваемые в ходе работы ПО, и соответствующие действия оператора при их получении.

ПО следует применять в соответствии с действующей версией руководства.

СОДЕРЖАНИЕ

АННОТАЦИЯ	2
1 НАЗНАЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ.....	4
2 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ	4
3 ПРИНЦИП РАБОТЫ	4
4 ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ	5
4.1 Загрузка	5
4.2 Установка и запуск	5
4.3 Заполнение данных и обозначение образцов.....	5
4.4 Сортировка образцов, функция «Фильтр»	7
4.5 Обработка данных и выдача результатов.....	7
4.6 Очистка внесённых данных и результатов.....	8
4.7 Сохранение результатов в виде бланка-отчёта	9
4.8 Завершение программы	10
4.9 Информация о программе	10
4.10 Удаление программы.....	10
5 СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ	10
5.1 Оценка достоверности результатов исследования	10
5.2 Результаты анализа исследуемых образцов.....	11
6 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	13
7 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	15

1 НАЗНАЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Программное обеспечение «Amplitech HPV ST soft» версии 1.0 предназначено для автоматической обработки данных, полученных в программном обеспечении детектирующего амплификатора, и автоматической интерпретации и выдачи результатов исследования в виде отчёта при применении набора реагентов «Amplitech HPV ST (R)» производства ООО «Ампитек».

ПО предназначено для применения в клинико-диагностических лабораториях, использующих в своей работе набор реагентов «Amplitech HPV ST (R)».

2 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОГРАММЫ

ПО предназначено для применения на персональных компьютерах.

Для работы ПО требуются технические и программные средства, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Требования к составу технических и программных средств

Технические средства	Программные средства
Персональный компьютер со следующими характеристиками: - процессор с тактовой частотой не менее 1,5 ГГц, - оперативная память объёмом не менее 4 Гб, - наличие свободного пространства на жёстком диске объёмом не менее 2 Гб.	- Операционная система Microsoft Windows 10 (для 32- или 64-разрядной системы) и выше; - Программная платформа Microsoft.NET Runtime 6.0.8 и выше; - Программная платформа Microsoft.AspNetCore.App 6.0.8 и выше; - Распространяемый компонент Microsoft Visual C++ 2015-2022 Redistributable
Принтер для печати бланка-отчёта (опционально)	—

Пользователь ПО (оператор) должен являться сотрудником клинико-диагностической лаборатории и обладать практическими навыками работы с персональным компьютером.

3 ПРИНЦИП РАБОТЫ

В качестве исходных данных ПО использует значения порогового цикла амплификации (Ct) исследуемых образцов и контролей, полученных по соответствующим каналам детекции в программном обеспечении используемого детектирующего амплификатора.

После внесения значений Ct в соответствующие столбцы ПО, обозначения образцов и нажатия кнопки «Интерпретировать данные» ПО проводит расчёт концентрации специфических мишеней, оценку полученных значений для контролей на соответствие заданным критериям и интерпретацию результатов. При необходимости ПО позволяет формировать бланк-отчёт с полученными результатами.

4 ВЫПОЛНЕНИЕ ПРОГРАММЫ

4.1 Загрузка

Загрузить архив с инсталлятором ПО с сайта производителя по ссылке: <http://www.amplitech.ru/resources/>. Распаковать архив.

4.2 Установка и запуск

После распаковки архива выбрать инсталлятор ПО x86 или x64 соответственно для 32- или 64-разрядной операционной системы и запустить его двойным кликом, далее следовать указаниям по установке.

Примечание – В случае возникновения проблем при установке ПО проверить наличие и характеристики технических и программных средств, необходимых для работы ПО, в соответствии с таблицей 1.

После установки ПО на рабочем столе автоматически будет создан ярлык для запуска ПО (см. рисунок 1).



Рисунок 1

4.3 Заполнение данных и обозначение образцов

Столбцы таблицы с наименованием каналов детекции флуоресцентного сигнала (FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5) следует заполнять путём копирования столбца со значениями Ct непосредственно из программного обеспечения используемого амплификатора с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», либо из файла экспорта данных в Microsoft Excel, соблюдая при этом соответствие каналов для флуорофоров. Аналогичным образом копируется обозначение образцов в столбец «Образец».

Значения Ct в столбцы с наименованием каналов детекции флуоресцентного сигнала и обозначение образцов также можно вносить вручную.

Примечание - В ПО предусмотрено копирование данных без заголовков столбцов. Если при внесении данных был скопирован заголовок, он будет проигнорирован.

При внесении скопированных значений Ct по столбцам ПО автоматически добавит необходимое количество образцов, присвоит им порядковые номера и определит порядок реакционных смесей (см. рисунок 2).

Образец	Смесь
Образец 1	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2
Образец 2	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2
Образец 3	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2

Рисунок 2

При внесении скопированных обозначений образцов (обозначения должны быть скопированы без пустых строк между ними) ПО автоматически добавит необходимое количество образцов и определит порядок реакционных смесей (см. рисунок 3).

Образец	Смесь
A	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2
B	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2
C	HPV ST (R)-1
	HPV ST (R)-2

Рисунок 3

Добавлять образцы возможно построчно путём нажатия на кнопку «Добавить образец» (рисунок 4) в блоке кнопок управления в верхнем правом углу окна программы.



Рисунок 4

Для обозначения контрольных образцов необходимо кликнуть правой кнопкой мыши на образец в столбце «Образец» и выбрать из выпадающего списка вид контроля (см. рисунок 5):

- «ПК HPV ST» - положительный контроль,
- «OK» – отрицательный контроль.

Образец

Образец 1

Образец

ПК HPV ST

Образец 2

ОК

Образец 3

Рисунок 5

После определения контролей ПО подсветит ПК и ОК разными цветами (см. рисунок 6).

☐ № Образец

1 Образец 1 (ПК HPV ST)

2 Образец 2 (ОК)

Рисунок 6

Если контролем случайно был обозначен исследуемый образец, то необходимо кликнуть на нём правой клавишей мыши и выбрать из выпадающего списка вариант «Образец» (см. рисунок 5).

4.4 Сортировка образцов, функция «Фильтр»

Образцы возможно сортировать по порядку (от первого к последнему и наоборот) путём нажатия на стрелку справа от заголовка столбца «Образец» или «№» (см. рисунок 7). Стрелка появляется при наведении курсора на заголовок.

№ ↑ Образец ↑

Рисунок 7

Поле «Фильтр» позволяет осуществлять поиск образца по обозначению в столбце «Образец».

4.5 Обработка данных и выдача результатов

После внесения значений St в соответствующие столбцы ПО и обозначения образцов нажать кнопку «Интерпретировать данные» (рисунок 8) для обработки

данных и проведения расчёта концентрации выявленной ДНК ВПЧ ВКР.



Рисунок 8

В результате обработки внесённых данных ПО:

- проведёт оценку достоверности результатов ПЦР-исследования и выдаст статус в верхнем поле над таблицей с данными и результатами в соответствии с п. 5.1 (см. рисунок 9);
- проведёт оценку валидности исследуемых образцов (достаточности исследуемого материала для анализа);
- выдаст в столбце «Результат» (см. рисунок 9) текстовое сообщение о наличии/отсутствии ДНК ВПЧ ВКР в образце, выявленном генотипе ВПЧ ВКР, клинической значимости количественного результата и рассчитанные значения концентрации ДНК ВПЧ ВКР (концентрацию ДНК ВПЧ определённого типа и/или суммарную вирусную нагрузку всех выявленных типов ВПЧ) в Ig (копий ДНК ВПЧ ВКР/10⁵ клеток человека). Подробное описание вариантов выдачи результатов для исследуемых образцов см. в п. 5.2.

Amplitech HPV ST soft

Результат: Ок

Фильтр _____ Врач _____

☐	№	Образец	Смесь	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5	Результат
	1	Образец 1 (ПК HPV ST)	HPV ST (R)-1	25	25	25	25	25	
			HPV ST (R)-2	25	25	25	25	25	
	2	Образец 2 (ОК)	HPV ST (R)-1						
			HPV ST (R)-2						
☐	3	Образец 3	HPV ST (R)-1	-	-	-	-	22	ДНК ВПЧ ВКР не выявлена
			HPV ST (R)-2	-	-	-	-	21	

Рисунок 9

4.6 Очистка внесённых данных и результатов

Чтобы произвести расчёт с новыми данными, нажать кнопку «Очистить образцы» (рисунок 10) в блоке кнопок управления в верхнем правом углу окна программы для очистки внесённых данных и результатов их анализа.



Рисунок 10

4.7 Сохранение результатов в виде бланка-отчёта

Перед завершением работы ПО следует сохранить бланк-отчёт с результатами анализа данных. Для этого необходимо:

- указать в поле «Врач» фамилию и инициалы врача, который выдаёт заключение об исследуемых образцах;
- выбрать образцы, результаты которых будут отображены в бланке, в крайнем левом столбце (см. рисунок 11). Если нажать на верхний чек-бокс, автоматически будут выбраны все исследуемые образцы;

☐	№	Образец	Смесь	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5	Результат
☒	1	Образец 1 (ПК HPV ST)	HPV ST (R)-1	25	25	25	25	25	
			HPV ST (R)-2	25	25	25	25	25	
☒	2	Образец 2 (OK)	HPV ST (R)-1						
			HPV ST (R)-2						
☒	3	Образец 3	HPV ST (R)-1					22	Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации 5 Ig (копий/10 ⁵ клеток). Высокая вероятность дисплазии. Выявлено более двух типов ВПЧ. Рекомендуется генотипирующее исследование.
			HPV ST (R)-2	24	24	24	24	24	
☒	4	Образец 4	HPV ST (R)-1					22	ДНК ВПЧ ВКР не выявлена
			HPV ST (R)-2					21	
☐	5	Образец 5	HPV ST (R)-1						Недостаточно материала для анализа
			HPV ST (R)-2						

Рисунок 11

- нажать кнопку «Печать» (рисунок 12) в блоке кнопок управления в верхнем правом углу окна программы.



Рисунок 12

Бланк-отчёт с результатами сохранится в формате PDF, пример бланка см. на рисунке 13.

Исследование: Качественное и количественное определение и генотипирование ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска методом ПЦР

Образец: Образец 3

Врач: Фамилия Имя Отчество

Дата: 05.06.2022

Заключение: Выявлена ДНК ВПЧ ВКР 33 типа в клинически значимой концентрации 4,45 lg (копий/10⁵ клеток)

Существует риск дисплазии.

Рисунок 13

4.8 Завершение программы

Для завершения работы ПО нажать на кнопку «Закрыть» в правом верхнем углу окна программы. ПО выдаст сообщение с кнопками «Да» и «Нет» (рисунок 14). Кнопка «Да» завершает работу с ПО, кнопка «Нет» - возвращает к экранной форме.

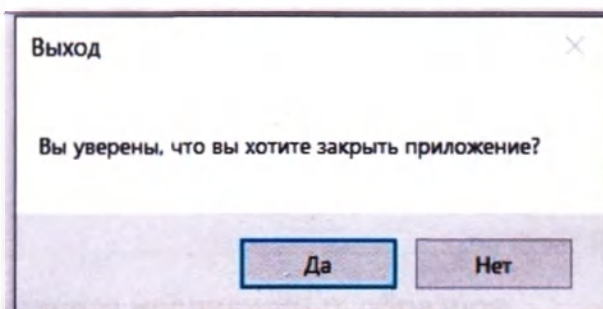


Рисунок 14

4.9 Информация о программе

При нажатии на кнопку «Описание» (рисунок 15) в блоке кнопок управления в верхнем правом углу окна программы появляется всплывающее сообщение с описанием ПО и его версией.



Рисунок 15

4.10 Удаление программы

Выберите «Пуск» и найдите ПО в списке. Щёлкните правой кнопкой мыши по значку приложения, а затем выберите пункт «Удалить».

В программах и компонентах выберите ПО, нажмите «Удалить», следуйте указаниям системы.

5 СООБЩЕНИЯ ОПЕРАТОРУ

5.1 Оценка достоверности результатов исследования

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей. ПО автоматически проверяет наличие обязательных

контролей (ПК HPV ST и ОК) в постановке, а также получение валидных результатов для них. По результатам проверки в верхнем поле над таблицей с данными и результатами выдаётся статус ПЦР-исследования в виде текстового сообщения согласно таблице 2 (пример см. на рисунке 9).

Таблица 2

Статус ПЦР-исследования		
Статус	Расчёт количественных значений и выдача заключения по исследуемым образцам	Рекомендации по устранению ошибок
Результат: Ок	Производится	—
Результат: Не найден контроль ПК HPV ST	Не производится	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Результат: Не найден контроль ОК		Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Результат: Невалидный ПК HPV ST		Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Результат: Контаминация ОК		

5.2 Результаты анализа исследуемых образцов

В случае если получены валидные результаты для контролей ПО «Amplitech HPV ST soft» выдаёт для исследуемых образцов в графе «Результат» количественные результаты и текстовые сообщения согласно таблице 3.

Таблица 3

Варианты выдачи результатов анализа исследуемых образцов

Результат, полученный в ПО	Интерпретация
Отрицательный результат	
ДНК ВПЧ ВКР не выявлена.	ДНК ВПЧ ВКР выявляемых типов в исследуемом образце не выявлена.
Оценка клинической значимости результата при выявлении нескольких типов ВПЧ ВКР в образце	
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически малозначимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток).	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка менее 3 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически малозначимой величиной.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток). Существует риск дисплазии.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка от 3 до 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Существует риск дисплазии.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации X lg	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка

Результат, полученный в ПО		Интерпретация
(копий/10 ⁵ клеток). Высокая вероятность дисплазии.	Высокая	более 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Высокая вероятность дисплазии.
Варианты генотипирования при выявлении нескольких типов ВПЧ ВКР в образце		
Выявлен X тип ВПЧ в концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Выявлен Y тип ВПЧ в концентрации Y lg (копий/10 ⁵ клеток)*.		Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённых типов в указанной концентрации.
Выявлено более двух типов ВПЧ с преобладанием X типа в концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.		Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, возможно определение преобладающего типа и его концентрации. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Выявлен X тип в концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.		Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, определение всех генотипов в образце невозможно с использованием набора. Выявленный тип ВПЧ в образце содержится в указанной концентрации. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Выявлен 16 и/или 18 и/или 45 тип в концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.		Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, включая 16 и/или 18 и/или 45 типы ВПЧ. Определение всех генотипов в образце невозможно с использованием набора. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Рекомендуется генотипирующее исследование.		Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, определение генотипов невозможно с использованием набора. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Оценка клинической значимости результата при выявлении одного типа ВПЧ ВКР в образце		
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в клинически малозначимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*.		Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка менее 3 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически малозначимой величиной.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в клинически значимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Существует риск дисплазии.		Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка от 3 до 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Существует риск дисплазии.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в клинически значимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток)*. Высокая вероятность дисплазии.		Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка более 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Высокая вероятность дисплазии.
Невалидный результат		
Недостаточно материала для анализа		Концентрация ДНК человека (ВК) в исследуемом образце недостаточна для анализа.

* В случае если концентрация выявленного типа ВПЧ менее нижней границы диапазона измерения набора, то количественный результат выдаётся в виде: «менее X lg (копий/10⁵

Результат, полученный в ПО	Интерпретация
клеток)». В случае если концентрация выявленного типа ВПЧ более верхней границы диапазона измерения набора, то количественный результат выдаётся в виде: «более X lg (копий/10 ⁵ клеток)».	

Пример выдачи результатов анализа исследуемых образцов в ПО см. на рисунке 16.

☐ № ↓	Образец	Смесь	FAM	R6G	ROX	Sy5	Sy5.5	Результат
☐ 6	Образец 6	HPV ST (R)-1					21	ДНК ВПЧ ВКР не выявлена
		HPV ST (R)-2					20	
☐ 5	Образец 5	HPV ST (R)-1	25		25		22	Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации 4,57 lg (копий/10 ⁵ клеток). Существует риск дисплазии. Выявлено более двух типов ВПЧ. Выявлен 18 тип в концентрации 4,1 lg (копий/10 ⁵ клеток). Рекомендуется генотипирующее исследование.
		HPV ST (R)-2		25		25	22	
☐ 4	Образец 4	HPV ST (R)-1			35		22	Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически малозначимой концентрации менее 1,92 lg (копий/10 ⁵ клеток) клеток. Рекомендуется генотипирующее исследование.
		HPV ST (R)-2					22	
☐ 3	Образец 3	HPV ST (R)-1			23		22	Выявлена ДНК ВПЧ ВКР 56 типа в клинически значимой концентрации 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) Высокая вероятность дисплазии.
		HPV ST (R)-2			22		21	

Рисунок 16

Действия оператора в случае получения невалидного результата для исследуемого образца указаны в таблице 4.

Таблица 4

Невалидный результат для исследуемых образцов

Ошибка, выдаваемая ПО	Расчёт количественных значений и выдача заключения для исследуемого образца	Рекомендации по устранению ошибки
Недостаточно материала для анализа	Не производится	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.

6 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применены следующие сокращения:

Ct	– cycle threshold (пороговый цикл)
HPV	– human papillomavirus
в.	– версия
ВПЧ	– вирус папилломы человека

ВПЧ ВКР	– вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ОК	– отрицательный контроль
ПК	– положительный контроль
ПО	– программное обеспечение
ПЦР	– полимеразная цепная реакция

7 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с ПО и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

17
лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплитек»

А.Б. Ходяков



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 14 ЛИСТОВ

«28» января 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

22.11.2022



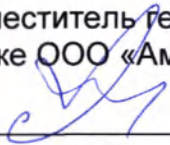
А.В. Ходяков

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ДНК ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ
ЧЕЛОВЕКА ВЫСОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА МЕТОДОМ ПЦР С
ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»
(AMPLITECH HPV ST (R))

Инструкция по применению версии 22.11.22

Лист утверждения

Заместитель генерального директора по
науке ООО «Амплитек»


_____ А.С. Коновалов
22.11.2022

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»


_____ Д.А. Бурдачёва
22.11.2022



АМПЛИТЕК

Amplitech HPV ST (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени»
(Amplitech HPV ST (R))

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

REF

P012-0



48

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
1.1 Область применения	4
2 СОСТАВ	4
3 ПРИНЦИП МЕТОДА	5
3.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК HPV ST	5
4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
5 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	6
6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	8
7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	9
7.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции	9
7.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции	11
8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	12
9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ	14
10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	15
10.1 Контроли, используемые в процессе исследования	15
10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	15
10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований	15
11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	15
11.1 Предел обнаружения	15
11.2 Диапазон измерения и предел измерения	16
11.3 Аналитическая специфичность	16
11.4 Прецизионность измерения	18
11.5 Правильность измерения	18
11.6 Диагностические характеристики	18
11.7 Корреляция	18
12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	19
12.1 Срок годности	19
12.2 Хранение	19
12.3 Транспортирование	19
12.4 Эксплуатация	19
13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	20
14 БИБЛИОГРАФИЯ	20
15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	20
16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	21
17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	21
18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	21

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 22.11.22 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV ST (R))» по ТУ 21.20.23-018-19926214-2022 (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech HPV ST (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

2. Вирусы папилломы человека (ВПЧ) представляют собой группу из более чем 100 близкородственных безоболочечных двухцепочечных ДНК-вирусов семейства Papillomaviridae. ВПЧ инфицируют эпителиальные клетки кожи и слизистых оболочек. Не менее 35 типов ВПЧ поражают слизистую оболочку половых органов человека, что может вызывать доброкачественную пролиферацию тканей и/или неопластическую трансформацию эпителия с последующим развитием рака. По способности вызывать злокачественное перерождение эпителия, можно выделить две группы ВПЧ – «ВПЧ низкого канцерогенного риска» и «ВПЧ высокого канцерогенного риска» (ВПЧ ВКР).

К ВПЧ ВКР относятся 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типы. ВПЧ ВКР являются главной этиологической причиной развития рака шейки матки и предшествующей ему тяжелой дисплазии. Суммарно 14 типов ВПЧ ВКР обнаруживаются в 95 % случаев рака шейки матки.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов) в биологическом материале человека, полученном в рамках профилактического ВПЧ-скрининга, диспансерного мониторинга пациентов с ВПЧ-инфекцией, диагностики ВПЧ-инфекции при онкопатологии шейки матки и при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы у женщин. Определение и генотипирование ДНК ВПЧ ВКР с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Материалом для проведения ПЦР-исследования служат образцы ДНК, экстрагированной из:

- соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса) и мазков со слизистой оболочки влагалища, помещённых в транспортную среду, не предназначенную для жидкостной цитологии;
- соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса), помещённых в среду для жидкостной цитологии.

1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* ВПЧ-инфекции, вызываемой 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типами ВПЧ (выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов).

Набор может применяться в клинко-диагностических лабораториях.

2 СОСТАВ

Состав набора¹ указан в таблице 1 и 2.

Таблица 1

Состав набора			
Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет с реагентами HPV ST (R)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет с реагентами, заклеенный защитной плёнкой
Плёнки для планшета	–	2 шт.	Клейкие плёнки
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК HPV ST (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами ДНК ВПЧ и ДНК внутреннего контроля)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде

¹ Набор упакован в коробку из картона.

Компонент	Номинальный объем, мл	Кол-во	Внешний вид
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/
Программное обеспечение «Amplitech HPV ST soft» в. 1.0	–	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Руководство оператора	–	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/

Таблица 2

Расположение реагентов в планшете

Ряды пробирок	Реагент	Внешний вид
A, C, E, G	Смесь HPV ST (R)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок
B, D, F, H	Смесь HPV ST (R)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от бесцветного до светло-лилового цвета на дне пробирок

Набор рассчитан на проведение исследования 48 образцов, включая контроли.

3 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов ПЦР и раздельное выявление мишеней (ДНК ВПЧ ВКР определённого типа и внутреннего контроля (ВК)) обеспечивается применением в двух реакционных смесях для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по пяти различным каналам флуоресцентной детекции, соответствующим флуорофорам FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5. Для выявления ВПЧ используются ДНК-мишени, находящиеся в областях генов E6 и E7. В качестве ВК используется участок ДНК β-глобинового гена человека.

Линейная зависимость между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (порогового цикла, Ct) позволяет определять концентрацию ДНК ВПЧ в образце относительно положительного контроля ПК HPV ST (образца с известной концентрацией ДНК-мишеней), который проходит этап экстракции ДНК и ПЦР одновременно с исследуемыми образцами. Определение концентрации ДНК ВПЧ производится в соответствии с заданными значениями концентраций ПК HPV ST и полученными значениями Ct для ПК HPV ST и исследуемых образцов.

3.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК HPV ST

Концентрация клонированных фрагментов ДНК ВПЧ в ПК HPV ST составляет $5 \lg \pm 0,5 \lg$ копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

² В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 3.

Таблица 3

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Необходимое оборудование и материалы в случае	
автоматизированной подготовки к проведению ПЦР	ручной подготовки к проведению ПЦР
• автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» («Амплитек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); • программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСЗ 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446)); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.	• ПЦР-бокс; • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 20 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • штатив для ПЦР-планшетов (РУ № ФСЗ 2011/10287); • программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСЗ 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446)); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 20 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

5 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2Б.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21 (раздел IV).

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные,

организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Утилизировать реагенты и плёнки для планшета (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Не открывать пробирки с продуктами амплификации в процессе их сбора и утилизации.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора, инструкцию по применению и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Утилизировать биологический материал, а также расходные материалы и инструменты, загрязнённые биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Б.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 1 и 2.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром.

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
- требованиями, перечисленными в таблице 4.

Таблица 4

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие мазков со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А5 универсальный» или «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие и предобработка соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Взятие материала провести с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощётки (например, «Зонд тип F3 комбинированный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) или стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в ёмкость с:

- транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке; или
- средой для проведения жидкостной цитологии (например, жидкость консервирующая BD SurePath™ (Becton Dickinson and Company, США) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Предобработка:

ВНИМАНИЕ! При исследовании биоматериала, помещённого в среду для жидкостной цитологии, требуется его предобработка.

ВНИМАНИЕ! Необходимо использовать отдельный наконечник для каждого образца исследуемого материала.

Автоматическим дозатором на 1000 мкл отобрать 1,0 мл клеточного осадка со дна флакона с образцом и перенести в стерильную одноразовую пробирку объёмом 1,5 мл, пробирку промаркировать. Центрифугировать 2 мин при 10000 x g. Не захватывая осадок, аккуратно удалить надосадочную жидкость отдельным наконечником на 200 мкл без фильтра, используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, или отдельным наконечником с фильтром, используя автоматический дозатор. В пробирке должно остаться 100–200 мкл среды с осадком. Перед внесением подготовленного образца в раствор для лизиса ресуспендировать клеточный осадок вортексированием.

Транспортирование и хранение исследуемого материала проводится согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание материала.

7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

Экстракцию ДНК из исследуемого материала и контролей, а также внесение образцов экстрагированной ДНК в пробирки с реакционными Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2 провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции ДНК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек»).

7.1.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ОК и ПК HPV ST и осадить капли на вортексе.

7.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-ВПЧ (R)» и внести в него исследуемые образцы и контроли согласно инструкции по его применению.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК HPV ST не менее чем в одном повторе.

7.1.3 Установить на рабочий стол автоматической станции картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, а также расходные материалы, входящие в состав набора «ДНК-ВПЧ (R)», согласно руководству по эксплуатации станции.

7.1.4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

Ряд	Вид смеси	Столбцы											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	HPV ST (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	HPV ST (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
D	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	HPV ST (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
F	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	HPV ST (R)-1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
H	HPV ST (R)-2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Рисунок 1 – Схема планшета с реагентами

7.1.5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки необходимо использовать реагенты в течение 24 ч.

7.1.6 Установить отрезанные пробирки с Смесями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.

ВНИМАНИЕ! Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

7.1.7 Запустить выполнение следующих протоколов согласно руководству по эксплуатации станции «Amplitech E1»:

а) протокола экстракции ДНК с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «ДНК-ВПЧ (R)»;

Примечание – В протоколе указать объём элюции, равный от 100 до 200 мкл. В случае одновременного запуска протоколов экстракции и подготовки к проведению ПЦР объём элюции не требует ручного ввода, так как уже включён в протокол подготовки к проведению ПЦР.

б) протокола подготовки к проведению ПЦР с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «Amplitech HPV ST (R)».

7.1.8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV ST (R)». Элюат, внесённый в пробирки, содержит полученную в процессе экстракции ДНК.

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

7.1.9 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 5.

Таблица 5

Программа ПЦР и детекции при подготовке к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1»

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	2 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G ³ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

- 1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.
- 2) При одновременном поведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.

³ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

7.1.10 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

7.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции

7.2.1 Провести экстракцию ДНК (с применением автоматической или ручной методики) из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объёме от 100 до 200 мкл.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК HPV ST не менее чем в одном повторе. Перед использованием контролей перемешать их и осадить капли на вортексе.

7.2.2 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

7.2.3 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

Примечание – После снятия защитной плёнки необходимо использовать реагенты в течение 24 ч.

7.2.4 Для удобства внесения образцов ДНК рекомендуется установить отрезанные пробирки в штатив для ПЦР-планшетов.

7.2.5 Внести в подготовленные пробирки по 20 мкл образцов ДНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК HPV ST).

ВНИМАНИЕ! Каждый образец ДНК вносится в две пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (HPV ST (R)-1, HPV ST (R)-2).

ВНИМАНИЕ! При внесении ДНК необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

7.2.6 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха.

7.2.7 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV ST (R)».

ВНИМАНИЕ! Пробирки, заклеенные плёнкой, не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания их на защитную плёнку.

7.2.8 Запрограммировать амплификатор для проведения ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 6.

Программа ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ПЦР

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	42
	60	20 с	FAM, R6G ⁴ , ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

- 1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.
- 2) При одновременном поведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.

7.2.9 Поместить пробирки с реакционными смесями и элюатом в амплификатор и запустить программу.

8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учёт и интерпретация результатов осуществляется в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения «Amplitech HPV ST soft». Порядок работы с программным обеспечением описан в руководстве оператора по его применению.

ПО «Amplitech HPV ST soft» выдаёт рассчитанные значения концентрации ДНК ВПЧ ВКР (концентрацию ДНК ВПЧ определённого типа и/или суммарную вирусную нагрузку всех выявленных типов ВПЧ) в lg (копий ДНК ВПЧ ВКР/10⁵ клеток человека).

Алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов указан в таблице 7.

Таблица 7

Алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов

Результат, полученный в ПО	Интерпретация
Отрицательный результат	
ДНК ВПЧ ВКР не выявлена.	ДНК ВПЧ ВКР выявляемых типов в исследуемом образце не выявлена.
Оценка клинической значимости результата при выявлении нескольких типов ВПЧ ВКР в образце	
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически малозначимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток).	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка менее 3 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически малозначимой величиной.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации X lg (копий/10 ⁵ клеток). Существует риск дисплазии.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка от 3 до 5 lg (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Существует риск дисплазии.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР в клинически значимой концентрации X lg	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ ВКР нескольких типов в указанной суммарной концентрации. Суммарная вирусная нагрузка

⁴ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

Результат, полученный в ПО	Интерпретация
(копий/10 ⁵ клеток). Высокая вероятность дисплазии.	более 5 Ig (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Высокая вероятность дисплазии.
Варианты генотипирования при выявлении нескольких типов ВПЧ ВКР в образце	
Выявлен X тип ВПЧ в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Выявлен Y тип ВПЧ в концентрации Y Ig (копий/10 ⁵ клеток)*.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённых типов в указанной концентрации.
Выявлено более двух типов ВПЧ с преобладанием X типа в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.	Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, возможно определение преобладающего типа и его концентрации. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Выявлен X тип в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.	Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, определение всех генотипов в образце невозможно с использованием набора. Выявленный тип ВПЧ в образце содержится в указанной концентрации. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Выявлен 16 и/или 18 и/или 45 тип в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Рекомендуется генотипирующее исследование.	Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, включая 16 и/или 18 и/или 45 типы ВПЧ. Определение всех генотипов в образце невозможно с использованием набора. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Выявлено более двух типов ВПЧ. Рекомендуется генотипирующее исследование.	Исследуемый образец одновременно содержит ДНК более двух типов ВПЧ, определение генотипов невозможно с использованием набора. Рекомендуется проведение дополнительного генотипирующего исследования.
Оценка клинической значимости результата при выявлении одного типа ВПЧ ВКР в образце	
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в клинически малозначимой концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка менее 3 Ig (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически малозначимой величиной.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Существует риск дисплазии.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка от 3 до 5 Ig (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Существует риск дисплазии.
Выявлена ДНК ВПЧ ВКР X типа в концентрации X Ig (копий/10 ⁵ клеток)*. Высокая вероятность дисплазии.	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации. Вирусная нагрузка более 5 Ig (копий/10 ⁵ клеток) и является клинически значимой величиной. Высокая вероятность дисплазии.
Невалидный результат	
Недостаточно материала для анализа	Концентрация ДНК человека (ВК) в исследуемом образце недостаточна для анализа.

* В случае если концентрация выявленного типа ВПЧ менее нижней границы диапазона измерения набора, то количественный результат выдаётся в виде: «менее X Ig (копий/10⁵

Результат, полученный в ПО	Интерпретация
клеток)». В случае если концентрация выявленного типа ВПЧ более верхней границы диапазона измерения набора, то количественный результат выдаётся в виде: «более X Ig (копий/10 ⁵ клеток)».	

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей. В случае сбоя в прохождении контролей или их отсутствии ПО «Amplitech HPV ST soft» сигнализирует о наличии ошибок анализа сообщениями: «Невалидный ПК HPV ST» / «Контаминация ОК» / «Не найден контроль ПК HPV ST» / «Не найден контроль ОК».

Если генотипирование выявленной ДНК ВПЧ с использованием набора затруднено, то в описании результата добавляется фраза «Рекомендуется генотипирующее исследование». В этом случае рекомендуется, при необходимости, проводить дополнительное генотипирование ВПЧ с использованием набора реагентов «Amplitech HPV GT (R)» или аналогичного набора реагентов для проведения генотипирования ВПЧ ВКР.

9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 8.

Таблица 8

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Невалидный ПК HPV ST	Некорректное проведение экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Контаминация ОК	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ПК HPV ST	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Не найден контроль ОК	Отсутствие или некорректное обозначение контроля в ПО	Проверить наличие и правильность обозначения контролей. Если контроли отсутствуют, повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Недостаточно материала для анализа	Нарушения при взятии и/или хранении биоматериала. Некорректное проведение экстракции ДНК. Наличие в образце ингибиторов ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.

10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

10.1 Контроли, используемые в процессе исследования

10.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК HPV ST для контроля корректного прохождения исследования, а также для количественного определения ДНК ВПЧ выявляемых с помощью набора типов и ДНК β-глобинового гена человека в биологическом материале.

10.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации используется эндогенный ВК – ДНК человека (участок β-глобинового гена), который присутствует в каждом исследуемом биологическом образце и ПК HPV ST. Неважные результаты амплификации для ВК свидетельствует о присутствии ингибиторов ПЦР в образце, плохом качестве взятия и/или хранения биоматериала, некорректном проведении экстракции ДНК.

10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований

Рекомендуется проводить контроль качества выполнения исследований с использованием панелей контрольных образцов, предназначенных для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по количественному определению и генотипированию ДНК ВПЧ, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для количественного определения и генотипирования ДНК ВПЧ в биологическом материале методом ПЦР.

11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА⁵

11.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 9.

⁵ Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартных образцов предприятия, содержащих векторы со специфическими последовательностями выявляемых типов ДНК ВПЧ.

Предел обнаружения

Мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95 %-ый ДИ, копий/мл
ДНК ВПЧ 16 типа	1000	674 – 1300
ДНК ВПЧ 18 типа	1000	689 – 1308
ДНК ВПЧ 31 типа	1000	714 – 1401
ДНК ВПЧ 33 типа	1000	695 – 1370
ДНК ВПЧ 35 типа	1000	700 – 1375
ДНК ВПЧ 39 типа	1000	668 – 1282
ДНК ВПЧ 45 типа	1000	712 – 1373
ДНК ВПЧ 51 типа	1000	700 – 1368
ДНК ВПЧ 52 типа	1000	626 – 1213
ДНК ВПЧ 56 типа	1000	707 – 1384
ДНК ВПЧ 58 типа	1000	664 – 1309
ДНК ВПЧ 59 типа	1000	644 – 1263
ДНК ВПЧ 66 типа	1000	654 – 1235
ДНК ВПЧ 68 типа	1000	715 – 1385

11.2 Диапазон измерения и предел измерения

Диапазон измерения набора составляет от 2000 до 200000000 копий ДНК ВПЧ типов 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 в 1 мл исследуемого образца для всех заявленных видов биологического материала. Предел измерения набора совпадает с нижней границей диапазона измерения набора.

11.3 Аналитическая специфичность

По анализу результатов *in silico* выбранные олигонуклеотиды позволяют гарантировано дифференцировать ВПЧ типов 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 как между собой, так и с другими известными типами ВПЧ. При этом подобранные праймеры и зонды на 100 % совпадают с опубликованными последовательностями выявляемых типов ВПЧ, представленными в базе NCBI по состоянию на 04 августа 2021 г.

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 10, и геномной ДНК человека. ДНК микроорганизмов исследовалась в концентрации не менее $1 \cdot 10^6$ копий/мл, геномная ДНК человека - в концентрации 1 мкг/мл. По итогам тестирования ложноположительных результатов выявлено не было.

Таблица 10

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
<i>Candida albicans</i>	ВПЧ 6 типа	ВПЧ 45 типа
<i>Chlamydia trachomatis</i>	ВПЧ 11 типа	ВПЧ 51 типа
<i>Mycoplasma genitalium</i>	ВПЧ 16 типа	ВПЧ 52 типа
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ВПЧ 18 типа	ВПЧ 56 типа
<i>Trichomonas vaginalis</i>	ВПЧ 26 типа	ВПЧ 58 типа
<i>Mycoplasma hominis</i>	ВПЧ 31 типа	ВПЧ 59 типа
<i>Escherichia coli</i>	ВПЧ 33 типа	ВПЧ 66 типа

Наименование	Наименование	Наименование
<i>Treponema pallidum</i>	ВПЧ 35 типа	ВПЧ 68 типа
<i>Ureaplasma parvum</i>	ВПЧ 39 типа	ВПЧ 73 типа
–	ВПЧ 44 типа	ВПЧ 82 типа

11.3.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР, перечислены в таблице 11.

Таблица 11

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки/соскобы эпителия в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат	Антисептическое средство для местного применения	0,001 %	10 % от рекомендованной дозы
	Гель-смазка интимная Context Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	
Соскобы эпителия в среде для жидкостной цитологии	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат	Антисептическое средство для местного применения	0,001 %	10 % от рекомендованной дозы
	Гель-смазка интимная Context Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Жидкость консервирующая BD SurePath™	Метанол	Среда для жидкостной цитологии	90 %	
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции⁶ ДНК ВПЧ из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 11 и стандартные образцы предприятия, содержащие ДНК ВПЧ выявляемых типов в концентрации 2000 копий/мл и ДНК ВК (ДНК человека) в концентрации 100000 копий/мл. Далее с экстрагированными образцами проводили ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech HPV ST (R)».

⁶ Экстракция проводилась с использованием набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Ампитек»).

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech HPV ST (R)», отсутствует.

11.4 Прецизионность измерения

Коэффициент вариации повторяемости CV_p значений концентрации, характеризующий внутрисерийную повторяемость измерений с использованием набора, не превышает 5 %.

Коэффициент вариации воспроизводимости CV_v значений концентрации, характеризующий межсерийную воспроизводимость измерений с использованием набора, не превышает 10 %.

11.5 Правильность измерения

Систематическая погрешность, характеризующая правильность измерения с использованием набора, не превышает 15 %.

11.6 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 12.

Таблица 12

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
	положит.	отриц.		
Мазки со слизистой оболочки влагалища в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	80	80	95,5 – 100	95,5 – 100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	140	142	97,4 – 100	97,4 – 100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в среде для жидкостной цитологии	80	80	95,5 – 100	95,5 – 100

11.7 Корреляция

Корреляция экспериментальных значений концентраций, полученных при исследовании образцов биологического материала с использованием набора реагентов «Amplitech HPV ST (R)» и референтного набора реагентов, представлена на рисунке 2.

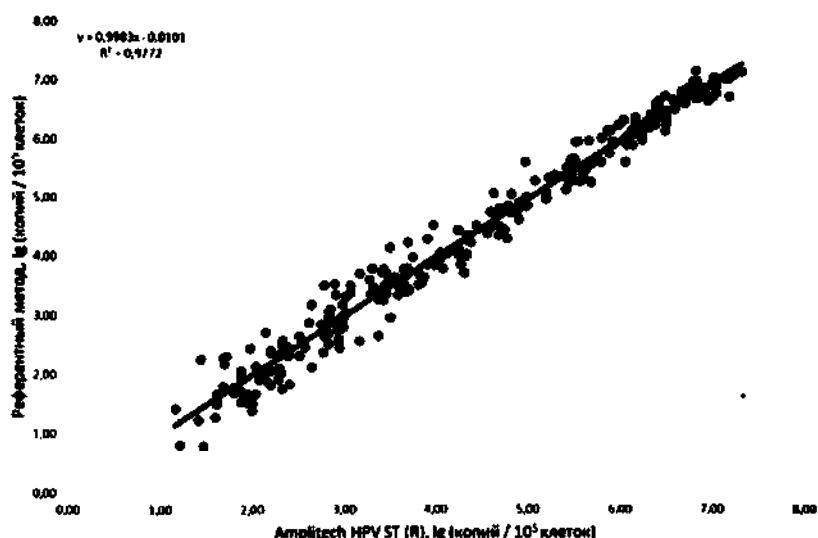


Рисунок 2

12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

12.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты ПК HPV ST, ОК использовать до истечения срока годности набора. После снятия защитной плёнки реагенты Смесь HPV ST (R)-1, Смесь HPV ST (R)-2 использовать в течение 24 ч.

12.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °C до 8 °C в защищённом от солнечного света месте. Планшет с реагентами HPV ST (R) беречь от влаги. Допускается хранить набор при температуре от 8 °C до 25 °C не более 5 суток.

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

Не допускается оставлять реагенты на рабочем столе станции более чем на 24 ч.

12.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °C до 8 °C всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Допускается транспортировать набор при температуре от 8 °C до 25 °C не более 10 суток.

12.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Пробирки планшета с реагентами предназначены для однократного использования.

Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °C до 25 °C и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

Ct	– cycle threshold (пороговый цикл)
HPV	– human papillomavirus
в.	– версия
ВК	– внутренний контроль
ВПЧ	– вирус папилломы человека
ВПЧ ВКР	– вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ПК	– положительный контроль
ПО	– программное обеспечение
ПЦР	– полимеразная цепная реакция

14 БИБЛИОГРАФИЯ

1. Taswell C. Limiting dilution assays for the determination of immunocompetent cell frequencies // J. Immunology, – 1981. – Vol. 126. – P. 1614–1619.
2. Allen G. Rodrigo, Paul C. Goracke, Kiarash Rowhanian, James I. Mullins. Quantitation of target molecules from polymerase chain reaction-based limiting dilution assays // AIDS research and human retroviruses. – 1997. – Vol. 13 (9). – P. 737–742.

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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 ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором и не указанных в данной инструкции, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Код серии



Дата изготовления



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Предел температуры



Обратитесь к инструкции по применению



Не допускать воздействия солнечного света



Содержимого достаточно для проведения n тестов



Беречь от влаги



Номер по каталогу



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

23

лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплитек»

А.В. Ходяков



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 23 ЛИСТОВ

«18» апреля 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

