ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ

от 20 января 2023 года **№ РЗН 2023/19389**

На медицинское изделие
Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) "HIV-тест" по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

Настоящее регистрационное удостоверение выдано
**Общество с ограниченной ответственностью "ТестГен"
(ООО "ТестГен"), Россия,
432072, г. Ульяновск, 44-й Инженерный пр-д, д. 9, офис 13**

Производитель
**Общество с ограниченной ответственностью "ТестГен"
(ООО "ТестГен"), Россия,
432072, г. Ульяновск, 44-й Инженерный пр-д, д. 9, офис 13**

Место производства медицинского изделия
ООО "ТестГен", Россия, 432072, г. Ульяновск, 44-й Инженерный пр-д, д. 9, помещ. 35, 36, 37

Номер регистрационного досье **№ РД-51811/69458 от 02.09.2022**

Класс потенциального риска применения медицинского изделия **3**

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности **21.20.23.110**

Настоящее регистрационное удостоверение имеет приложение на 1 листе

приказом Росздравнадзора от 20 января 2023 года № 271
допущено к обращению на территории Российской Федерации.

**Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения** **А.В. Самойлова**

0070192

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

ПРИЛОЖЕНИЕ
К РЕГИСТРАЦИОННОМУ УДОСТОВЕРЕНИЮ
НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ

от 20 января 2023 года **№ РЗН 2023/19389**

Лист 1

На медицинское изделие
Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) "HIV-тест" по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021: в составе:
1. ОТ-ПЦР-буфер: 1 пробирка, 500 мкл.
2. Смесь олигонуклеотидов: 1 пробирка, 500 мкл.
3. ПКО: 1 пробирка, 495 мкл.
4. ОКО: 2 пробирки, по 1700 мкл.
5. ВКО: 1 пробирка, 1000 мкл.

В комплект поставки набора реагентов «HIV-тест» входит:
- Набор реагентов «HIV-тест» - 1 шт.;
- Инструкция по применению - 1 шт.;
- Паспорт качества - 1 шт. на партию.

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения **А.В. Самойлова**

0116197

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТестГен

Генетика нового поколения

ООО «ТестГен»

Паспорт качества №108

Стандартный образец предприятия

Контрольный образец специфичности (КОС)

(для Набора реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021)

Номер лота: 202202-108
Количество изделий в партии: 10
Изготовлен: 2022-02
Срок годности: 2023-02

Состав и характеристики КОС

№п/п	Наименование показателя	Характеристики и нормы	Полученный результат	Вывод о соответствии
1. Технические характеристики				
1.1 Внешний вид				
1	Контрольный образец специфичности (КОС)	Прозрачная бесцветная жидкость	Прозрачная бесцветная жидкость	**Соответствует**
2. Функциональные характеристики				
1	Контрольный образец специфичности (КОС)	Раствор геномной ДНК человека, выделенной из клеточной линии Jurkat с концентрацией 3000 копий на 15 мкл (200 000 копий/мл)	Проверку концентрации стокового раствора Jurkat (производства «Thermo Fisher Scientific», США) проводят спектрофотометрически в 3 дублях с помощью микроспектрофотометра NanoDrop 2000c (производства Thermo Scientific, США) по ГОСТ Р 8.657-2009 с диапазоном излучения 190-840 нм. ДНК общая: Д1 – 86,7 нг/мкл; Д2 - 87,2 нг/мкл; Д3 – 88 нг/мкл. Далее готовят готовый к использованию КОС с концентрацией 1000 копий на 5 мкл путем разбавления в расчетном объеме буфера ТЕ (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА). Концентрация геномной ДНК из клеточной линии Jurkat составляет 3000 копий на 15 мкл (200 000 копий/мл)	**Соответствует**

Условия хранения: в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре не выше минус 20 °С в течение всего срока годности набора.

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

КОС, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Условия транспортирования: транспортировать транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности.

Допускается транспортировка при температуре +4 °С до 10 суток, при комнатной температуре (15-25 °С) не более двух суток.

Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Дата выдачи паспорта: 01.02.2022

Штамп ОТК:

ТестГен ОТК ГЕНЕТИКА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТестГен

ООО «ТестГен»

Паспорт качества №107

Стандартный образец предприятия
Контрольный образец для определения чувствительности (КОЧ-2)

(для Набора реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021)

Номер лота: 202202-107
Количество изделий в партии: 10
Изготовлен: 2022-02
Срок годности: 2023-02

Состав и характеристики КОЧ-2

№п/п	Наименование показателя	Характеристики и нормы	Полученный результат	Вывод о соответствии
1. Технические характеристики				
1.1 Внешний вид				
1	КОЧ-2	Прозрачная бесцветная жидкость	Прозрачная бесцветная жидкость	**Соответствует**
2. Функциональные характеристики				
1	Контрольный образец для определения чувствительности	Смесь плазмид с синтетическими вставками фрагмента генома вируса ВИЧ-2 (HIV2_1pos) в 10 % ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) с концентрацией 20 копий/мл.	Проверку концентраций плазмид проводят спектрофотометрически с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000c (производства Thermo Scientific, США) по ГОСТ Р 8.657-2009 с диапазоном излучения 190-840 нм. Плазмида: HIV2_1pos — Концентрация плазмиды в стоке 10^12, копий/мкл: 2,8 Готовят к использованию КОЧ-2 с концентрацией плазмид: HIV2_1pos – 20 копий/мл, из стокового раствора 10^12 плазмидной ДНК в расчётном объёме буфера ТЕ (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА)	**Соответствует**

Условия хранения: в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре не выше минус 20 °С в течение всего срока годности набора.

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

КОЧ-2, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Условия транспортирования: транспортировать транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности.

Допускается транспортировка при температуре +4 °С до 10 суток, при комнатной температуре (15-25 °С) не более двух суток.

Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Дата выдачи паспорта: 01.02.2022

Штамп ОТК:

ТестГен ОТК ГЕНЕТИКА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТестГен

ООО «ТестГен»

Паспорт качества №106

Стандартный образец предприятия
Контрольный образец для определения чувствительности (КОЧ-1)

(для Набора реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021)

Номер лота: 202202-106
Количество изделий в партии: 10
Изготовлен: 2022-02
Срок годности: 2023-02

Состав и характеристики КОЧ-1

№п/п	Наименование показателя	Характеристики и нормы	Полученный результат	Вывод о соответствии
1. Технические характеристики				
1.1 Внешний вид				
1	КОЧ-1	Прозрачная бесцветная жидкость	Прозрачная бесцветная жидкость	**Соответствует**
2. Функциональные характеристики				
1	Контрольный образец для определения чувствительности	Смесь плазмид с синтетическими вставками фрагмента генома вируса ВИЧ-1 (HIV1_1pos) в 10 % ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) с концентрацией 20 копий/мл.	Проверку концентраций плазмид проводят спектрофотометрически с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000c (производства Thermo Scientific, США) по ГОСТ Р 8.657-2009 с диапазоном излучения 190-840 нм. Плазмида: HIV1_1pos; Концентрация плазмиды в стоке 10^12, копий/мкл: 2,9 Готовят к использованию КОЧ-1 с концентрацией плазмид: HIV1_1pos – 20 копий/мл, из стокового раствора 10^12 плазмидной ДНК в расчётном объёме буфера ТЕ (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА)	**Соответствует**

Условия хранения: в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре не выше минус 20 °С в течение всего срока годности набора.

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

КОЧ-1, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Условия транспортирования: транспортировать транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности.

Допускается транспортировка при температуре +4 °С до 10 суток, при комнатной температуре (15-25 °С) не более двух суток.

Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Дата выдачи паспорта: 01.02.2022

Штамп ОТК:

ТестГен ОТК ГЕНЕТИКА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТестГен

ООО «ТестГен»

Паспорт качества № 77

Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

Номер партии (лот)	202203-77
Количество наборов в партии	2
Дата изготовления	2022-03
Срок годности	2023-03

Состав и характеристики набора:

Наименование показателя	Характеристики и нормы	Полученный результат	Вывод о соответствии
1.1 Технические характеристики			
1.1.1 ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 500 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 500 мкл	**Соответствует**
1.1.2 Смесь олигонуклеотидов	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета, 1 пробирка, 500 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета, 1 пробирка, 500 мкл	**Соответствует**
1.1.3 ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, по 495 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, по 495 мкл	**Соответствует**
1.1.4 ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 пробирки, по 1700 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 пробирки, по 1700 мкл	**Соответствует**
1.1.5 ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1000 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1000 мкл	**Соответствует**
1.2 Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021	**Соответствует**
1.3 Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 21.20 23-039-97638376-2021	В соответствии с п. 4 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021	**Соответствует**
1.4 Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021	В соответствии с п. 5 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021	**Соответствует**
2. Функциональные характеристики			
2.1 Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM/Green Ct≤30, HEX/Yellow Ct<30, ROX/Orange Ct≤30.	FAM,Ct - 18,2 HEX,Ct - 18,6 ROX,Ct - 17,5	**Соответствует**
2.2 Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналам FAM/Green и ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, а по каналу HEX/Yellow Ct<34.	По каналам FAM, ROX, график накопления флуоресценции отсутствует; HEX, Ct – 28,2.	**Соответствует**
2.3 Прохождение реакции в пробирках с КОС	В пробирках с КОС по каналам FAM/Green и ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует), а по каналу HEX/Yellow Ct<34.	По каналам FAM, ROX, график накопления флуоресценции отсутствует; HEX, Ct – 28,7	**Соответствует**
2.4 Прохождение реакции в пробирках с КОЧ-1	В пробирках с КОЧ-1 по каналу FAM/Green во всех повторах (не менее 4) Ct≤35, по каналу ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, по каналу HEX/Yellow результат не учитывается.	FAM, Ct – 30,5; 30,6; 30,2; 30,8 HEX, Ct – 29,2; 29,3; 28,9; 29,1 По каналу ROX, график накопления флуоресценции отсутствует.	**Соответствует**
2.5 Прохождение реакции в пробирках с КОЧ-2	В пробирках с КОЧ-2 по каналу ROX/Orange во всех повторах (не менее 4) Ct≤35, по каналу FAM/Green Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, по каналу HEX/Yellow результат не учитывается.	ROX, Ct – 30,2; 30,1; 30,3; 30 HEX, Ct – 29,1, 29,3, 28,8; 29,2 По каналу FAM, график накопления флуоресценции отсутствует.	**Соответствует**

Хранение

Набор реагентов «HIV-тест» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от минус 18 до минус 22 °С в течение всего срока годности набора, допускается хранение при температуре от 2 до 8 °С не более 10 суток.

Допускается заморозка/оттаивание набора реагентов «HIV-тест» не более 10 раз.

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

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

Транспортирование

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

Транспортировать при температуре от минус 18 до минус 22 °С в течение всего срока годности набора. Допускается транспортировка при температуре от 2 до 8 °С до 10 суток, или при температуре от 15 до 25°С не более 5 суток.

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

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

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

Набор реагентов соответствует ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

Дата выдачи паспорта: 14.03.2022

Штамп ОТК

ТестГен ОТК ГЕНЕТИКА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ТестГен»

_____ А.Н. Тороповский

«22» августа 2022 г.

ИЗВЕЩЕНИЕ ОБ ИЗМЕНЕНИИ № 01

Инструкция

Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ООО «ТестГен»	ИЗВЕЩЕНИЕ № 01	ОБОЗНАЧЕНИЕ Инструкция	
Дата выпуска	Срок изм.	Лист	Листов
22.08.2022	Август 2022	2	3
Причина	По результатам испытаний	Код 5	
Указание о заделе	На заделе не отражается		
Указание о внедрении	С момента утверждения		
Применяемость	Инструкция «Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021»		
Разослать			
Приложение	отсутствует		

Изм.	СОДЕРЖАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
1	

Лист 14-16

В разделе **«4. Характеристики набора реагентов», п. 4.3. Характеристики клинической эффективности** изложить в новой редакции:

«**4.3. Характеристики клинической эффективности**

В ходе проведения клинических испытаний было отобрано 218 образцов плазмы крови человека, из которых:

- 141 образец плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, инфицированных ВИЧ-1,

- 10 образцов плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, инфицированных ВИЧ-2,

- 37 образцов, не содержащих РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2, но с подтвержденным положительным наличием геномной НК следующих организмов и вирусов: *Hepatitis A virus, Human Gammaherpesvirinae 4, Human herpesvirus 5, Human herpesvirus 1, Hepatitis B virus, Escherichia coli, Hepatitis C virus, Human herpesvirus 6, Staphylococcus aureus, Human herpesvirus 2, Human herpesvirus 3, Tick-borne encephalitis virus, Adenoviridae.*

Для проведения целевой мультиплексной ПЦР-амплификации ДНК были использованы амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия. Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10229 от 03.03.2011 г.);

- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США. Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016 г.);

- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия. Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010 г.);

- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США. Регистрационное удостоверение № РЗН 2019/8446 от 06.06.2019 г.).

Воспроизводимость результатов для всех использованных амплификаторов 100%.

Составил		Проверил		Т. контр.		Н. контр.		Утвердил	
Никитин	22.08.2022	Гороповский	22.08.2022	Никитин	22.08.2022	Халилова	22.08.2022	Гороповский	22.08.2022

Изменения внес Халилова Л.М.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Изм.	СОДЕРЖАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
1	

Каждый образец был протестирован в двух сериях с помощью исследуемого набора реагентов «HIV-тест» производства ООО «ТестГен» для оценки межсерийной сходимости.

Таким образом, проверка качества, безопасности и эффективности испытуемого медицинского изделия на образцах плазмы крови человека была проверена в 436 опытах.

В условиях воспроизводимости наблюдалась полная внутриостановочная, межостановочная и межсерийная воспроизводимость

Таблица 4 Диагностические характеристики набора реагентов «HIV-тест»

Вид исследуемого материала	Количество наблюдений с положительными пробами		Количество наблюдений с отрицательными пробами	Диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95 %		Диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95 %
	HIV-1	HIV-2		HIV-1	HIV-2	
Плазма крови	282	80	74	100% (95% ДИ:98,70%-100%)	100% (95% ДИ:95,49%-100%)	100% (95% ДИ:95,14%-100%)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью
3 (Три) листов
Должность: ген. директор
Тороповский А.Н.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью
( ) листов
Должность: ген. директор
Тороповский А.Н.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТестГен
Генетика нового поколения

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

ИНСТРУКЦИЯ

Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

ТУ 21.20.23-039-97638376-2021

Содержание

Список сокращений 4
Введение 5
1. Назначение 7
2. Принцип метода 7
3. Состав набора реагентов 9
4. Характеристики набора реагентов 11
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов 17
6. Меры предосторожности при работе с набором 17
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов 20
8. Анализируемые образцы 21
9. Подготовка компонентов набора для исследования 25
10. Проведение анализа 26
11. Регистрация и интерпретация результатов 29
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов 31
13. Утилизация 32
14. Гарантийные обязательства, контакты 34
Приложение А 35

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Список сокращений

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	полимеразная цепная реакция
ОТ	обратная транскрипция
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	комплиментарная ДНК
РНК	рибонуклеиновая кислота
HIV-1, ВИЧ-1	вирус иммунодефицита человека типа 1
HIV-2, ВИЧ-2	вирус иммунодефицита человека типа 2
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
КОЧ-1	контрольный образец для определения чувствительности-1
КОЧ-2	контрольный образец для определения чувствительности-2
КОС	контрольный образец специфичности

Введение

ВИЧ-инфекция – инфекционное антропонозное хроническое заболевание с контактным путем передачи, медленно прогрессирующее и характеризующееся поражением иммунной системы с развитием СПИДа, вызываемое вирусом иммунодефицита человека. В настоящее время известны два типа вируса иммунодефицита человека – ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Клиническими проявлениями несостоятельности иммунной защиты являются оппортунистические инфекции, злокачественные новообразования, дистрофические и аутоиммунные процессы, что при отсутствии специфического лечения ведет к гибели инфицированного человека[1]. Одновременное выявление ВИЧ-1 и ВИЧ-2 необходимо для назначения адекватной терапии заболевания.

В соответствии с клиническими рекомендациями: «ВИЧ-инфекция у взрослых», B20, B21, B22, B23, B24, Z21, год утверждения - 2020 (Министерство здравоохранения Российской Федерации).

Целевой аналит: специфичный участок геномной РНК ВИЧ-1 (HIV-1) – фрагмент гена *pol*, специфичные участки геномной РНК ВИЧ-2 (HIV-2) – фрагменты 5` и 3` LTR (long terminal repeat, длинные концевые повторы).

Научная обоснованность целевого аналита заключается в его специфичности (уникальности последовательности РНК) в отношении геномов ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – представитель семейства ретровирусов, рода лентивирусов. Геном представлен молекулой РНК и включает около 9 000 нуклеотидов у ВИЧ-1 и около 10 000 у ВИЧ-2. Выявление РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2 свидетельствует о репликации вирусов в организме и является методом диагностики заболевания. Генетический материал вируса можно обнаружить с помощью ОТ-ПЦР через 1-3 недели после заражения. Количественное определение вирусной нагрузки используется при выборе препаратов в составе схем антиретровирусной терапии, для оценки эффективности антиретровирусной терапии и с прогностической целью[1].

[1] Клинические рекомендации: «ВИЧ-инфекция у взрослых», B20, B21, B22, B23, B24, Z21, год утверждения - 2020 (Министерство здравоохранения Российской Федерации).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Область применения набора реагентов: клиническая лабораторная диагностика инфекционных заболеваний.

Показания и противопоказания к применению

Показания к применению: для установления диагноза ВИЧ инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии[1].

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

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия: популяционных, демографических аспектов применения набора реагентов «HIV-тест» не выявлено.

Стерильность: изделие не стерильно.

1. Назначение

Назначение: набор реагентов «HIV-тест» предназначен для качественного определения РНК вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) методом одностадийной полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в пробе РНК, выделенной из плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), у пациентов для установления диагноза ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии.

Функциональное назначение: полученные результаты могут использоваться для диагностики ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии.

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клинико-диагностических лабораториях. Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский технолог, медицинский лабораторный техник.

2. Принцип метода

Метод

Одностадийная обратная транскрипция – мультиплексная аллель-специфическая полимеразная цепная реакция с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Тип анализируемого образца

Материалом для исследования являются пробы РНК, выделенные из плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта).

Принцип определения

Качественное определение РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2 методом одностадийной обратной транскрипции – мультиплексной аллель-специфической полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в пробе РНК, выделенной из клинического материала, включает в себя три этапа:

1. Подготовка ОТ-ПЦР:

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2. Обратная транскрипция РНК и ПЦР-амплификация кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;

3. Интерпретация результатов.

С пробами РНК проводятся реакции одностадийной обратной транскрипции и амплификации специфических участков при помощи специфичных к ним праймеров в реакционном буфере.

В состав ОТ-ПЦР-буфера входят все основные реагенты, включая ревертазу с «тёплым стартом», термостабильную ДНК полимеразу с «горячим стартом», дезоксинуклеотидтрифосфаты и оптимизированный буфер.

В составе смесей олигонуклеотидов присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой РНК-мишени и гидролизуются (разрушаются) *Taq*-полимеразой, в результате чего разобщаются краситель и тушитель, и происходит нарастание интенсивности флуоресценции по соответствующему диапазону оптического спектра. Это позволяет регистрировать накопление специфичного продукта амплификации путём измерения интенсивности флуоресцентного сигнала в режиме реального времени.

Набор содержит реагенты для определения высокоспецифичных участков (мишеней) геномной РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также внутреннего контрольного образца (ВКО) (табл. 1).

ВКО позволяет оценить качество и эффективность выделения РНК и возможного наличия ингибиторов амплификации в пробе присутствие которых может привести к ложноотрицательным результатам.

Таблица 1 – Анализируемые мишени

Канал, соответствующий флуорофору		
FAM/Green	**HEX/Yellow**	**ROX/Orange**
РНК ВИЧ-1	ВКО	РНК ВИЧ-2

Ограничения метода

Возможная причина получения ложноположительного результата – контаминация на этапе выделения РНК или проведения

реакции ОТ-ПЦР. Ложноположительный результат может быть выявлен с помощью отрицательного контрольного образца.

Набор реагентов по истечении срока годности применению не подлежит.

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

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

Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах исследования с использованием данного МИ. В диагностических целях результаты должны использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей клинической картиной, результатами исследования другими тест-системами, применяемой терапией.

Время проведения ОТ-ПЦР составляет от 85 до 120 минут (без учета пробоподготовки), в зависимости от используемого амплификатора.

3. Состав набора реагентов

Набор реагентов «HIV-тест» выпускается в одной форме комплектации – «HIV-тест».

Количество анализируемых проб

Набор реагентов «HIV-тест» рассчитан на 100 реакций, что соответствует определению 96 исследуемых образцов, отрицательных и положительных контрольных образцов при единичном запуске амплификатора на 96 лунок или 33 единичным постановкам исследуемых образцов с отрицательными и положительными контрольными образцами в каждой постановке.

Таблица 2 – Состав набора реагентов «HIV-тест»

№ пп	Название реагента	Описание	Количество, объём
1.	ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 500 мкл
2.	Смесь олигонуклеотидов	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 500 мкл
3.	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 495 мкл

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

№ пп	Название реагента	Описание	Количество, объём
4.	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки по 1700 мкл
5.	ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 1000 мкл

Примечание: Эксплуатационная документация (инструкция по применению и паспорт качества) не входит в состав изделия, но входят в комплект поставки изделия. Набор реагентов, для обеспечения соблюдения условий транспортирования, помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Термоконтейнер вкладывается в коробку из картона, туда же помещается инструкция по применению и паспорт качества на каждую поставляемую партию изделия.

Состав набора

ОТ-ПЦР-буфер готов к использованию и содержит все основные компоненты, включая ревертазу с «тёплым стартом», термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», дНТФ, оптимизированный буфер. Для увеличения эффективности работы ДНК-полимеразы, в состав ОТ-ПЦР-буфера добавляют водный 100 мМ раствор сульфата магния (MgSO4).

Смесь олигонуклеотидов готова к использованию и содержит праймеры и зонды, предназначенные для выявления специфических мишеней. Смесь олигонуклеотидов находится в 10% водном растворе ТЕ (1 мМ Трис, 0,1 мМ ЭДТА), свободном от нуклеаз.

ПКО (положительный контрольный образец) готов к использованию и содержит выявляемый набором реагентов специфические фрагменты геномов ВИЧ-1, ВИЧ-2 и фрагмент генома бактериофага в концентрации $1x10^7$ копий/мл каждый. ПКО находится в 10% ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА).

ОКО (отрицательный контрольный образец) готов к использованию и представляет собой деионизованную воду, свободную от ДНКаз и РНКаз.

ВКО (внутренний контрольный образец) готов к использованию и представляет собой армированную РНК (геномная РНК бактериофага MS2, заключенная в капсид) с концентрацией $1,5x10^6$ копий/мл в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА).

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

4. Характеристики набора реагентов

4.1. Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Набор реагентов «HIV-тест»

Наименование показателя	Характеристики и нормы		Пункт ТУ
1. Технические характеристик			
1.1. Внешний вид			
Наименование реагента	**Внешний вид**	**Количество, объём, мкл (±5%)**	
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 500 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Смесь олигонуклеотидов	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 500 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 495 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки по 1700 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 1000 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
1.2. Комплектность	Пункт 1.4 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021		Раздел 7, пункт 7.9
1.3. Маркировка	Пункт 4 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021		Раздел 7, пункт 7.9
1.4. Упаковка	Пункт 5 ТУ 21.20.23-039-97638376-2021		Раздел 7, пункт 7.9
2. Функциональные характеристики			
2.1 Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM/Green Ct≤30, HEX/Yellow Ct≤30, ROX/Orange Ct≤30.		Раздел 7, пункт 7.7.2
2.2 Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналам FAM/Green и ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, а по каналу HEX/Yellow Ct≤34.		Раздел 7, пункт 7.7.2

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2.3 Прохождение реакции в пробирках с КОС	В пробирках с КОС по каналам FAM/Green и ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует), а по каналу HEX/Yellow Ct≤34.	Раздел 7 пункт 7.7.2
2.4 Прохождение реакции в пробирках с КОЧ-1	В пробирках с КОЧ-1 по каналу FAM/Green во всех повторах (не менее 4) Ct≤35, по каналу ROX/Orange Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, по каналу HEX/Yellow результат не учитывается.	Раздел 7 пункт 7.7.2
2.5 Прохождение реакции в пробирках с КОЧ-2	В пробирках с КОЧ-2 по каналу ROX/Orange во всех повторах (не менее 4) Ct≤35, по каналу FAM/Green Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, по каналу HEX/Yellow результат не учитывается.	Раздел 7 пункт 7.7.2

Примечание: при проведении контрольной ПЦР в качестве КОЧ и КОС используют:

- контрольный образец для определения чувствительности-1 (КОЧ-1) содержащий специфические фрагменты генома ВИЧ-1 в концентрации 2(копий/мл с добавлением 0,1% азида натрия в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА);

- контрольный образец для определения чувствительности-2 (КОЧ-2) содержащий специфические фрагменты генома ВИЧ-2 в концентрации 2(копий/мл с добавлением 0,1% азида натрия в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА);

- контрольный образец специфичности (КОС), представляющий собой раствор геномной ДНК человека, выделенной из клеточной линии Jurkat с концентрацией 3 000 копий на 15 мкл (200 000 копий/мл) с добавлением 10 мкл ВКО. Образец КОС проходит этап выделения НК.

Образцы КОЧ-1, КОЧ-2 в объёме 1000 мкл проходят процедуру выделения НК согласно инструкции.

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

4.2 Характеристики аналитической эффективности

4.2.1 Аналитическая специфичность

Специфичен по отношению к РНК вируса иммунодефицита человека 1 групп М (субтипы A–L), O, N, P и вирусу иммунодефицита 2.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце геномной НК следующих организмов и вирусов: человек (в концентрации до 10^5 копий/мл образца), вирусы гепатитов A, B, C и D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус герпеса 6 и 8 типов, вирус ветряной оспы, парвовирус B19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*.

4.2.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения (LOD) определяли методом анализа разведений стандартных образцов:

- **Международный стандарт ВОЗ 4-й международный стандарт ВИЧ-1** (WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard) **NIBSC code**: **16/194**, с концентрацией 125.900 МЕ/мл (~ 5,10 log10 МЕ/мл) при восстановлении в 0,5 мл деионизованной воды, не содержащей нуклеаз,

- **Международный стандарт ВОЗ Международный стандарт РНК ВИЧ-2** (WHO International Standard HIV-2 RNA International Standard) **NIBSC code: 08/150**, с концентрацией 1000 МЕ/мл при восстановлении в 0,5 мл деионизованной воды, не содержащей нуклеаз.

По результатам исследования предел обнаружения РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с частотой выявления 95 % с использованием амплификатора:

- ДТпрайм – 17,3 копий/мл (95%ДИ: 14,4 – 20,1 копий/мл), 30,2 МЕ/мл (95%ДИ: 24,8 – 33,5 МЕ/мл)

- CFX 96 – 16,5 копий/мл (95%ДИ: 13,6 – 19,3 копий/мл), 28,8 МЕ/мл (95%ДИ: 23,4 – 34,7 МЕ/мл)

- Rotor-Gene Q – 17,6 копий/мл (95%ДИ: 14,7 – 20,4 копий/мл), 30,9 МЕ/мл (95%ДИ: 25,5 – 36,2 МЕ/мл)

- Quant Studio 5 – 16,9 копий/мл (95%ДИ: 14,0 – 19,7 копий/мл), 29,6 МЕ/мл (95%ДИ: 24,2 – 34,9 МЕ/мл)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

По результатам исследования предел обнаружения **РНК ВИЧ-2** в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с частотой выявления 95 % для амплификатора:

- ДТпрайм – 17,7 МЕ/мл (95%ДИ: 14.8 – 20.15 МЕ/мл),
- CFX 96 – 17.5 МЕ/мл (95%ДИ: 14,6 – 20,3 МЕ/мл),
- Rotor-Gene Q – 18.0 МЕ/мл (95%ДИ: 15,1 – 20.8 МЕ/мл),
- Quant Studio 5 – 17.8 МЕ/мл (95%ДИ: 14.9 – 20.6 МЕ/мл).

Верификация предела обнаружения при тестировании различных субтипов **ВИЧ-1: группы М (A, B, C, D, AE, F, G, AG-GH), группы N и группы О** была проведена с помощью панели 2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224. Полученные результаты подтвердили способность набора реагентов «HIV-1-тест-Q» выявлять субтипы группы М (A, B, C, D, AE, F, G, AG-GH), группы N и группы О в концентрации ~ 20 копий/мл (~35 МЕ/мл) в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с верхним односторонним доверительным интервалом 95 %, превышающим ожидаемую частоту выявления 95 %.

4.2.3 Прецизионность в условиях повторяемости

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости положительный контрольный образец, контрольные образцы чувствительности (КОЧ-1, КОЧ-2) и специфичности (КОС) были исследованы по 10 повторов.

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

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

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

4.2.4 Прецизионность в условиях воспроизводимости

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

(Блок воспроизводимости 1, Блок воспроизводимости 2, Блок воспроизводимости 3, Блок воспроизводимости 4).

При проведении прецизионности в условиях воспроизводимости наблюдалась полная внутрипостановочная, межпостановочная и межсерийная воспроизводимость, коэффициент вариации не превышает 5%.

4.2.5 Метрологическая прослеживаемость контрольных образцов – ПКО, КОЧ-1, КОЧ-2 проведена с использованием:

- **Международного стандарта ВОЗ 4-й международный стандарт ВИЧ-1** (WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard) **NIBSC code: 16/194**, с концентрацией 125.900 МЕ/мл (~ 5,10 log10 МЕ/мл) при восстановлении в 0,5 мл деионизованной воды, не содержащей нуклеаз,
- **Международного стандарта ВОЗ Международный стандарт РНК ВИЧ-2** (WHO International Standard HIV-2 RNA International Standard) **NIBSC code: 08/150**, с концентрацией 1000 МЕ/мл при восстановлении в 0.5 мл деионизованной воды, не содержащей нуклеаз.

По результатам исследования приписанная концентрация:

- по отношению к РНК ВИЧ-1: ПКО – 10^7 копий/мл ($1.75*10^7$ МЕ/мл), КОЧ-1 – 20 копий/мл (35 МЕ/мл). Максимальное отклонение среднего значения от ожидаемых значений концентрации составило ±0,07 log10 копий/мл.
- по отношению к РНК ВИЧ-2: приписанная концентрация ПКО – 10^7 МЕ/мл, КОЧ-2 – 20 МЕ/мл. Максимальное отклонение среднего значения от ожидаемых значений концентрации составило ±0,27 log10 копий/мл.

4.2. Характеристики клинической эффективности

В ходе проведения клинических испытаний было отобрано 218 образцов плазмы крови человека, из которых:

- 141 образец плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, инфицированных ВИЧ-1,
- 10 образцов плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, инфицированных ВИЧ-2,
- 37 образцов, не содержащих РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2, но с подтвержденным положительным наличием геномной НК

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

следующих организмов и вирусов: *Hepatitis A virus, Human Gammaherpesvirinae 4, Human herpesvirus 5, Human herpesvirus 1, Hepatitis B virus, Escherichia coli, Hepatitis C virus, Human herpesvirus 6, Staphylococcus aureus, Human herpesvirus 2, Human herpesvirus 3, Tick-borne encephalitis virus, Adenoviridae.*

Для проведения целевой мультиплексной ПЦР-амплификации ДНК были использованы амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10229 от 03.03.2011 г.);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США, Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016 г.);
- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия, Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010 г.);
- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США, Регистрационное удостоверение № РЗН 2019/8446 от 06.06.2019 г.).

Воспроизводимость результатов для всех использованных амплификаторов 100%.

Каждый образец был протестирован в двух сериях с помощью исследуемого набора реагентов «HIV-тест» производства ООО «ТестГен» для оценки межсерийной сходимости.

Таким образом, проверка качества, безопасности и эффективности испытуемого медицинского изделия на образцах плазмы крови человека была проверена в 436 опытах.

В условиях воспроизводимости наблюдалась полная внутрипостановочная, межпостановочная и межсерийная воспроизводимость

Таблица 4 Диагностические характеристики набора реагентов «HIV-тест»

Вид исследуемого материала	Количество наблюдений с положительными пробами		Количество наблюдений с отрицательными пробами	Диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95 %		Диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95 %
	HIV-1	HIV-2		HIV-1	HIV-2	
Плазма	282	80	74	100%	100%	100%

крови				(95% ДИ:98,70%-100%)	(95% ДИ 95,49%-100%)	(95% ДИ 95,14%-100%)

5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов

В пограничную зону риска вошли опасности:

1. Потеря функциональных свойств реагентов, входящих в набор, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях;
2. Загрязнение клинического материала ингибирующими веществами в концентрациях, превышающих допустимые;
3. Контаминация реакционных смесей и образцов исследуемой РНК содержимым из пробирки ПКО или продуктами амплификации;
4. Проведение анализа с использованием пробы РНК низкого качества (низкая концентрация и/или плохая очистка);
5. Невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации вследствие работы с набором неквалифицированного персонала;
6. Использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия «Набор реагентов для качественного выявления РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-тест» по ТУ 21.20.23-039-97638376-2021» является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

Класс в зависимости от потенциального риска применения – 3, в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий, утверждаемой приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.06.2012 N 4н.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

Реагенты, входящие в набор «HIV-тест», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «HIV-тест», не токсичны, поскольку готовятся путём смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

Работу с материалом, заражённым или подозрительным на заражённость, проводят в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

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

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Следовать рекомендациям, изложенным в МУ «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (МУ 287-113), МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

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

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;

– применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

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

– не использовать набор по истечении срока годности;

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

– избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой; при контакте немедленно промыть поражённое место водой и обратиться за медицинской помощью.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против

любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

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

Работа с набором реагентов осуществляется в рабочей зоне 3 (для приготовления реакций) (МУ 1.3.2569-09).

Оборудование для проведения мультиплексной ПЦР:

1. Бокс биологической безопасности II и III класса защиты;
2. Вортекс;
3. Дозаторы переменного объема, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20–200 мкл, 100–1000 мкл;
4. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С;
5. Амплификатор[2] с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени по каналам, соответствующим флуорофорам FAM/Green, HEX/Yellow и ROX/Orange: CFX96 (BioRad, США), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

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

1. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, 200 мкл, 20 мкл и 10 мкл (например, Axygen, США);
2. Одноразовые стерильные пробирки типа «Эппендорф» на 1,5 или 2,0 мл;
3. Тонкостенные одноразовые пробирки с оптически прозрачной крышкой (в случае детекции через крышку) или оптически прозрачными стенками (в случае детекции через стенку пробирки) для ПЦР: пробирки для ПЦР объёмом 0,1 или 0,2 мл, или пробирки для ПЦР объёмом 0,1 или 0,2 мл в стрипах, или планшеты для ПЦР с оптически прозрачной плёнкой (например, Axygen, США), совместимые с используемым амплификатором;
4. Халат и одноразовые перчатки без талька;
5. Ёмкость с дезинфицирующим раствором;
6. Штативы «рабочее место» для пробирок объёмом 0,1 или 0.2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,1 или 0,2 мл;
7. Набор для выделения РНК из плазмы крови (см. п. 8.2 Инструкции).

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

8. Анализируемые образцы

Тип анализируемого образца

Материалом для исследования являются пробы РНК, выделенные из плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта).

8.1. Процедура получения клинического материала

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2012.

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

Забор материала на исследование

Взятие периферической крови проводится утром натощак в пробирку (вакуумную пробирку), содержащую раствор ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта, объёмом 4 или 6 мл. Сразу после взятия крови пробирку перевернуть 3–4 раза для перемешивания крови с раствором ЭДТА-К2.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина и цитрата натрия в качестве антикоагулянта.

ВНИМАНИЕ! Наличие гепарина в крови у пациентов, находящихся на антикоагулянтной терапии, может привести к получению недостоверных результатов в ОТ-ПЦР, поэтому забор крови у таких пациентов рекомендовано проводить до очередного введения препарата.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Условия транспортирования и хранения исходного клинического материала – крови:

– при температуре от 2 до 8 °С – не более 6 часов;

– при комнатной температуре – не более 2 часов.

Кровь не замораживать.

В течение 2 часов (при хранении при комнатной температуре) или 6 часов (при хранении при температуре от 2 до 8 °С) после забора материла следует отобрать плазму, для чего пробирку с кровью центрифугируют при 800–1600 g в течение 20 минут при комнатной температуре. После центрифугирования верхнюю фракцию (плазму) перенести в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 или 2,0 мл, свободную от РНКаз.

Условия транспортирования и хранения плазмы крови:

Допускается хранение плазмы при температуре от 2 до 8 °С до 5 суток, при температуре от минус 18 до минус 22 °С – до 3 месяцев, при температуре минус 70 °С – длительно.

ВНИМАНИЕ! Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов плазмы.

Для выделения РНК использовать не менее 100 мкл плазмы.

Повышение аналитической чувствительности набора возможно благодаря использованию большего объёма плазмы (1000 мкл), если это предусмотрено используемым набором для выделения РНК, а также уменьшением объёма элюции.

Предварительная обработка материала

Подготовка не требуется.

Учёт, хранение, передача и транспортирование клинического материала, подозрительного на наличие ВИЧ-1, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами по безопасности работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13), действующими санитарными правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности.

Утилизация клинического материала (класс В), как чрезвычайно эпидемиологически опасных отходов, осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.2 Процедура получения пробы РНК человека, выделенной из плазмы крови

Для выделения пробы РНК человека из плазмы крови рекомендуется использование следующих комплектов реагентов:

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

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

К объёму плазмы, предназначенной для выделения РНК, следует добавить 10 мкл ВКО из набора реагентов «HIV-тест». Объем ВКО рассчитан на использование объёма плазмы 1000 мкл, при уменьшении объёма используемого клинического материала следует пропорционально уменьшить объём добавляемого ВКО.

Через этап выделения с добавлением ВКО проходит также ОКО в объёме 100 мкл (при необходимости объём ОКО довести до требуемого с помощью стерильного физиологического раствора).

Условия возможного хранения анализируемых образцов РНК: - при +2 …+8 °С не более 4 ч (рекомендуется),

- при -18… -22 °С не более недели,
- при температуре не выше -80 °С не более года.

8.3. Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «HIV-тест» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые могут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «HIV-тест», и, предположительно, влиять на способность набора реагентов выдавать достоверные результаты.

Интерферирующие вещества могут происходить от следующих внешних и внутренних источников:

1) вещества, используемые при лечении пациента (например, лекарственные средства);

2) вещества, встречающиеся в конкретных видах образцов – в данном случае, загрязнение клинического образца гемоглобином крови может ингибировать ПЦР при недостаточной очистке при проведении процедуры выделения РНК;

3) вещества, встречающиеся при процедуре забора клинического материала – в данном случае, антикоагулянты.

Исследованные концентрации интерферирующих веществ приведены в таблице 5.

Таблица 5

Интерферирующие вещества	Максимальная концентрация
Эндогенные интерферирующие вещества	
Гемоглобин	260 мкг/мл
Триглицериды	37 ммоль/л
Билирубин	210 мкмоль/л
Гепарин (антикоагулянт)	0,15 МЕ/мл
Цитрат натрия (антикоагулянт)	0,1 мМ/мл
ЭДТА-К2 (антикоагулянт)	0,5 мМ/мл
Экзогенные интерферирующие вещества	
При антикоагулянтной терапии	
Гепарин	1 МЕ/мл
Препараты, назначаемые при терапии ВИЧ-1	
Эфавиренз	0,12 мг/мл
Долутегравир	0,02 мг/мл
Ламивудин	0,06 мг/мл
Тенофовир	0,06 мг/мл
Эмтрицитабин	0,04 мг/мл
Элсульфавирин	0,004 мг/мл
Фосфазид	0,16 мг/мл
Лопинавир	0,16 мг/мл
Абакавир	0,12 мг/мл
Долутегравир	0,01 мг/мл
Зидовудин	0,12 мг/мл
Ралтегравир	0,16 мг/мл
Азитромицин	0,1 мг/мл

На основании результатов исследования к ингибиторам ПЦР при проведении анализа отнесены следующие вещества:

1) антикоагулянты – гепарин в концентрации 0,15 МЕ/мл и цитрат натрия в концентрации 0,1 мМ/мл. Не допускается использование гепарина и цитрата натрия в качестве антикоагулянта при взятии периферической крови.

2) гепарин в концентрации 1 МЕ/мл, применяемый при антикоагулянтной терапии. Наличие гепарина в крови у пациентов, находящихся на антикоагулянтной терапии, может привести к получению недостоверных результатов в ПЦР, поэтому забор крови у таких пациентов рекомендовано проводить до очередного введения препарата.

Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия клинического материала.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

– анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);

– для исследования не пригодны образцы плазмы крови, взятые в пробирки с гепарином или цитратом натрия в качестве антикоагулянта;

– не допускается использование образцов, загрязнённых посторонним биологическим материалом.

– наличие гепарина в крови у пациентов, находящихся на антикоагулянтной терапии, может привести к получению недостоверных результатов в ПЦР, поэтому забор крови у таких пациентов рекомендовано проводить до очередного введения препарата.

9. Подготовка компонентов набора для исследования

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

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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

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

1. Тщательно перемешать содержимое пробирок с выделенной для анализа РНК, ПЦР-буфером, смесью олигонуклеотидов, ОКО и ПКО, переворачивая каждую пробирку 10 раз или перемешивая на вортексе на низкой скорости в течение 3–5 секунд, затем осадить капли с крышек пробирок коротким центрифугированием.

2. Отобрать необходимое количество пробирок (с оптически прозрачными крышками или стенками – в зависимости от используемого типа детектирующего амплификатора) объёмом 0,1 или 0,2 мл для ПЦР из расчёта: количество исследуемых образцов[3] + 1 х ПКО + 1 х ОКО.

10. Проведение анализа

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

1. Подготовка ОТ-ПЦР;
2. Обратная транскрипция РНК и ПЦР-амплификация кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;
3. Интерпретация результатов.

А) Подготовка ОТ-ПЦР

(производится в ЗОНЕ пре-ПЦР – помещении для раскапывания реагентов и подготовки к ПЦР-амплификации)

Общий объём реакции – 25 мкл.

ВНИМАНИЕ! Запрещено изменять объем реакции.

Для приготовления реакционной смеси на 1 реакцию необходимо:

[3] Для повышения точности рекомендуется анализировать каждый образец в двух повторах.

1. ПЦР-буфер – 5 мкл,
2. Смесь олигонуклеотидов – 5 мкл,
3. Образец (исследуемый образец РНК, ПКО, ОКО) – 15 мкл.

Готовить реакционные пробирки необходимо в следующем порядке:

1. Промаркировать пробирки на 0,1 или 0,2 мл для ПЦР.
2. В отдельной одноразовой стерильной пробирке типа «Эппендорф» объёмом 1.5 или 2.0 мл приготовить реакционную смесь: (n+3)x5 мкл ПЦР-буфера и (n+3)x5 мкл смеси олигонуклеотидов, где n – количество исследуемых образцов.
3. В каждую пробирку для ПЦР внести по 10 мкл приготовленной реакционной смеси.
4. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 15 мкл выделенной РНК. В пробирки для ПКО и ОКО препарат РНК не вносится.
5. Внести в соответствующую пробирку 15 мкл ПКО.
6. Внести в соответствующую пробирку 15 мкл ОКО, прошедших через этап выделения РНК (см. п. 8.2).
7. Для сброса капель со стенок отцентрифугировать пробирки в течение 1–3 секунд на микроцентрифуге-вортексе.

Б) Обратная транскрипция РНК и ПЦР-амплификация РНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;

(производится в ЗОНЕ ПЦР – помещении для проведения ПЦР-амплификации)

1. Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в реальном времени. Рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой.
2. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора. Протокол ПЦР указан в таблице 6.
3. **ВНИМАНИЕ!** В случае использования амплификаторов ДТпрайм значение экспозиции по каналу FAM/Green должно быть не более 1000.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 6 – Протокол ОТ-ПЦР

Стадия	Температура, °С	Время, мин.:сек.	Каналы детекции	Всего циклов
1	52	25:00	–	–
2	95	02:00	–	–
3	95	00:05	–	5
	60	00:15	–	
	67	00:15	–	
4	95	00:05	–	42
	60	00:15	FAM/Green, HEX/Yellow, ROX/Orange	
	67	00:15	–	

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

5. Запустить ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала.

6. По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

ВНИМАНИЕ! В случае использования амплификатора QuantStudio 5 необходимо произвести настройку оптических фильтров до запуска протокола амплификации (возможна регистрация сигнала VIC каналом ROX в случае $\Delta Rn > 100\ 000$, что может привести к получению ложноположительных результатов)! Для этого в закладке «Method» нажать кнопку «Action», после чего в спливающем меню выбрать «Optical filter settings», где в разделе «PCR Filter» оставить только следующие комбинации фильтров: x1 – m1, x2 – m2, x4 – m4, x5 – m5, x6 – m6.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

11. Регистрация и интерпретация результатов

Регистрацию результатов проводят по завершении ПЦР автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора.

Рекомендации по установке пороговой линии

Для амплификаторов любых моделей пороговая линия устанавливается индивидуально для каждого канала детекции на уровне, соответствующем 5–10% от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контрольного образца в последнем цикле амплификации.

Интерпретация результатов выполняется по значениям Ct каналов FAM/Green, HEX/Yellow, ROX/Orange. Учитываются только значения Ct, полученные на стадии ПЦР с флуоресцентной детекцией (то есть соответствующие стадии 4 – см. табл. 6).

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

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

Интерпретация результатов в контрольных образцах

Для ОКО и ПКО должны быть получены следующие результаты (табл. 7).

Таблица 7 – Результаты исследования для ОКО и ПКО

Контрольный образец	Значения Ct по каналам детекции, соответствующим флуорофорам		
	FAM/Green	HEX/Yellow	ROX/Orange
ОКО	>35 или отсутствует	≤34	>35 или отсутствует
ПКО	≤30	≤30	≤30

При получении для ОКО значений, отличающихся от указанных в таблице 7, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение

специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

При получении для ПКО значений, отличающихся от указанных в таблице 7, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов. При повторном получении для ПКО значений, отличающихся от указанных в таблице 7, необходимо заменить реагенты.

Интерпретация результатов в исследуемых клинических образцах

Интерпретация результатов проводится автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого вместе с используемым детектирующим амплификатором, или вручную.

Дальнейшие принципы интерпретации результатов отражены в таблице 8.

Причиной получения невалидного результата может служить присутствие ингибиторов в препарате РНК, полученном из клинического материала, неверное выполнение протокола анализа, несоблюдение температурного режима ПЦР и др.

Причиной получения сомнительного результата может служить недостаточная концентрация вируса в клиническом образце.

Таблица 8 – Принцип интерпретации результатов в исследуемых клинических образцах

Каналы, соответствующие флуорофорам			Интерпретация результата
FAM/Green (HIV-1), Ct	ROX/Orange (HIV-2), Ct	HEX/Yellow (ВКО), Ct	
≤35		не уч.	обнаружена РНК вируса, соответствующая каналу
–		≤34	РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2 не обнаружена
>35		не уч.	результат сомнительный для мишени, соответствующей каналу
–		>34 или отсутствует	невалидный результат

Обозначения: «не уч.» – результат при интерпретации не учитывается; «–» – сигнал флуоресценции отсутствует.

В случае невалидного и сомнительного результата заключение не выдается, необходимо повторно взять у пациента биоматериал и заново провести анализ. При этом для сомнительных результатов рекомендуется проведение выделения РНК из большего объёма плазмы.

При повторении сомнительного результата повторить исследование набором реагентов другого производителя или другим методом.

Диагностическое значение полученного результата исследования:

Полученный результат анализа может быть использован квалифицированным специалистом (врачом), с учётом данных клинической картины и других видов исследований в совокупности, для установления диагноза ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии.

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов

Хранение

Набор реагентов «HIV-тест» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от минус 18 до минус 22 °С в течение всего срока годности набора, допускается хранение при температуре от 2 до 8 °С не более 10 суток.

Допускается заморозка/оттаивание набора реагентов «HIV-тест» не более 10 раз.

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

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

Транспортирование

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

Транспортировать при температуре от минус 18 до минус 22 °С в течение всего срока годности набора. Допускается транспортировка при температуре от 2 до 8 °С до 10 суток, или при температуре от 15 до 25°С не более 5 суток.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

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

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

Срок годности

Срок годности набора реагентов «HIV-тест» – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Срок годности вскрытых компонентов набора

12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при условии хранения при температуре от минус 18 до минус 22 °С.

Срок годности приготовленных для работы компонентов набора

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

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твёрдым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме жёлтого и красного).

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

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

Потребительская упаковка набора реагентов «HIV-тест» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

14. Гарантийные обязательства, контакты

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

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

Общество с ограниченной ответственностью «ТестГен»
(ООО «ТестГен»),
432072, г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, дом 9, офис 13
Тел.: +7 (499) 705-03-75
www.testgen.ru
Служба технической поддержки:
Тел.: +7 (927) 981 58 81
E-mail: help@testgen.ru

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU