УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

_____ А.В. Ходяков

14.02.2024

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ДНК ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ 6 И 11 ТИПОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» (AMPLITECH HPV 6/11 (R)) ПО ТУ 21.20.23-036-19926214-2023

Инструкция по применению версии 14.02.24

Лист утверждения

Заместитель генерального директора по науке ООО «Амплитек»

_____ А.С. Коновалов

14.02.2024

Научный сотрудник отдела разработка и адаптации продукции ООО «Амплитек»

_____ А.А. Филичева

14.02.2024

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

АМПЛИТЕК

Amplitech HPV 6/11 (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вирусов папилломы 6 и 11 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV 6/11 (R)) по ТУ 21.20.23-036-19926214-2023

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD REF P026-0 Σ 96

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

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ ... 3
1 НАЗНАЧЕНИЕ ... 4
2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ... 4
3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ... 4
4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ... 4
5 СОСТАВ ... 4
6 ПРИНЦИП МЕТОДА ... 5
6.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК HPV ... 5
7 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ ... 6
8 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ... 6
9 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ ... 8
10 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ... 9
10.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции ... 9
10.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции ... 10
11 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ... 12
12 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ ... 13
13 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ... 14
13.1 Контроли, используемые в процессе исследования ... 14
13.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации ... 15
13.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований ... 15
14 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА ... 15
14.1 Предел обнаружения ... 15
14.2 Диапазон измерения и предел измерения ... 15
14.3 Аналитическая специфичность ... 16
14.4 Прецизионность измерения ... 17
14.5 Правильность измерения ... 17
14.6 Диагностические характеристики ... 17
14.7 Корреляция ... 17
15 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА ... 18
15.1 Срок годности ... 18
15.2 Хранение ... 18
15.3 Транспортирование ... 18
15.4 Эксплуатация ... 18
16 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ ... 19
17 БИБЛИОГРАФИЯ ... 19
18 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ ... 19
19 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ ... 20
20 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА ... 20
21 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ ... 20

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

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 14.02.24 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вирусов папилломы 6 и 11 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV 6/11 (R)) по ТУ 21.20.23-036-19926214-2023» (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech HPV 6/11 (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».

К ВПЧ низкого канцерогенного риска относятся 6, 11, 36, 42, 43, 44, 46, 47 и 50 типы. ВПЧ низкого онкогенного риска ассоциированы с доброкачественной пролиферации кожи и слизистых в виде генитальных и венерических бородавок, остроконечных и экзофитных кондилом. Выявление 6 и 11 генотипов ВПЧ является достаточным для диагностики, так как с ними сопряжено более 90% клинических форм низкоонкогенной папилломавирусной инфекции.

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

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) низкого канцерогенного риска 6 и 11 типов в биологическом материале человека, полученном в рамках профилактического ВПЧ-скрининга, диспансерного мониторинга пациентов с ВПЧ-инфекцией, диагностики ВПЧ-инфекции при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы у женщин. Определение и генотипирование ДНК ВПЧ с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Материалом для проведения ПЦР-исследования служат образцы ДНК, экстрагированной из следующих видов биологического материала:

- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса) и мазки со слизистой оболочки влагалища, 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.

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* ВПЧ-инфекции, вызываемой 6 и 11 типами ВПЧ (выявление, количественное определение и дифференциация ВПЧ 6 и 11 типов). Применение набора не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор предназначен для применения в клинической лабораторной диагностике для выявления, количественного определения и дифференциации ВПЧ 6 и 11 типов. Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования ДНК ВПЧ 6, 11 типов и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациента. Отрицательные результаты исследования должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

3 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказания к применению набора отсутствуют.

4 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ, ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ

При применении набора по назначению, в соответствии с данной инструкцией риски и побочные эффекты отсутствуют.

5 СОСТАВ

Состав набора[1] указан в таблице 1.

Таблица 1

Состав набора

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет со Смесью HPV 6/11 (R) (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет, заклеенный защитной плёнкой, с реагентом в виде геля (от светло-розового до красного цвета) на дне пробирок

[1] Набор упакован в коробку из картона.

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

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Плёнки для планшета	–	2 шт.	Клейкие плёнки
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК HPV (Раствор, содержащий генно-инженерные конструкции с фрагментами ДНК выявляемых типов ВПЧ)	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
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде[2] по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Набор рассчитан на проведение исследования 96 образцов, включая контроли.

6 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 определённого типа и эндогенного внутреннего контроля (ВК)) обеспечивается применением в реакционной смеси для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по трём различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 2).

Таблица 2

Каналы детекции мишеней

Канал детекции сигнала от флуорофора	Мишень	Область амплификации
R6G[3]	ДНК ВПЧ 6 типа	E6 gene
ROX	ДНК ВПЧ 11 типа	E6 gene
Cy5	ДНК эндогенного ВК	human β-globin gene

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 (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 и полученными значениями Ct для ПК HPV и исследуемых образцов.

6.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК HPV

Концентрация клонированных фрагментов ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в ПК HPV

[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.

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

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

составляет 5 lg ± 0,5 lg копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

7 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**
• Набор реагентов для экстракции ДНК: «ДНК-ВПЧ (R)» (форма выпуска 1) (ООО «Амплитек», РУ № РЗН 2022/17670); • Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции ДНК; • 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 № ФСР 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.	• Набор реагентов для экстракции ДНК: «ДНК-ВПЧ (R)» (форма выпуска 2) (ООО «Амплитек», РУ № РЗН 2022/17670); • Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции ДНК; • 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 № ФСР 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.

8 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».

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

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), внешнюю упаковку набора, эксплуатационную документацию 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 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 таблице 1.

• 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.

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

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

9 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, РУ № ФСР 2009/05514) 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, РУ № ФСР 2009/05514) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке; или • средой для проведения жидкостной цитологии (например, жидкость консервирующая BD SurePath™ (Becton Dickinson and Company, США, РЗН 2013/1335) 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 полученного исследуемого материала, осуществляется следующим образом:

– материал, помещённый в транспортную среду «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия,

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

РУ № ФСР 2009/05514), в соответствии с инструкцией при следующих температурных режимах:

- при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) – до 28 суток;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – до 3 месяцев;
- при температуре минус 20 °С и ниже – более длительное хранение;

– материал, помещённый в среду для проведения жидкостной цитологии BD SurePath™ (Becton Dickinson and Company, США, РЗН 2013/1335) в соответствии с инструкцией при следующих температурных режимах:

- при комнатной температуре (от 15 °С до 30 °С) – до 4 недель;
- при температуре от 2 °С до 10 °С – до 6 месяцев.

10 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

10.1 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 реакционной Смесью HPV 6/11 (R) 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»).

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

10.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-ВПЧ (R)» и внести в него исследуемые образцы[4] и контроли согласно инструкции по его применению.

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

10.1.3 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.

10.1.4 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесью HPV 6/11 (R) и снять с них защитную плёнку.

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

10.1.5 Установить отрезанные пробирки со Смесью HPV 6/11 (R) 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.

---

[4] Для образцов соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 9.

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

10.1.6 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 100 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 6/11 (R)».

10.1.7 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV 6/11 (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.

10.1.8 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, °С	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	R6G[5], ROX, Cy5	

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 °С – 15 мин» для экономии времени.

3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

10.1.9 Поместить пробирки с реакционной смесью и элюатом в амплификатор и запустить программу.

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

10.2.1 Провести экстракцию ДНК (с применением автоматической или ручной методики) из исследуемого материала и контролей с использованием

[5] Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

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

формы выпуска 2 набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объёме 100 мкл.

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

10.2.2 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесью HPV 6/11 (R) и снять с них защитную плёнку.

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

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

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

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

10.2.5 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха.

10.2.6 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV 6/11 (R)».

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

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

Таблица 6

Программа ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ПЦР

Цикл	Температура, °С	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	R6G[6], ROX, Cy5	

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 °С – 15 мин» для экономии времени.

3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

10.2.8 Поместить пробирки с реакционной смесью и элюатом в амплификатор и запустить программу.

[6] Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

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

11 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1 Учёт результатов осуществляется с помощью программного обеспечения используемого амплификатора согласно инструкции по его применению. Рекомендуется выставлять пороговую линию на уровне 10 % от разгорания положительного контроля. Кривые флуоресценции, пересекающие пороговую линию, должны иметь сигмообразную форму.

11.2 Проверить валидность исследуемых образцов, рассчитав концентрацию ДНК человека согласно формуле (1).

$$C_ч = \frac{100000}{2^{\Delta Ct}} \quad (1)$$

где $C_ч$ – концентрация ДНК человека, копий/мл;

ΔCt – разность между значением порогового цикла (Ct) для исследуемого образца и значением Ct для ПК HPV по каналу Cy5.

11.3 В случае, если рассчитанная концентрация ДНК человека для исследуемого образца менее 50000 копий/мл, либо значение Ct по каналу Cy5 отсутствует, образцу присваивается результат «Невалидный».

11.4 При получении валидного результата для образца проверить наличие значения Ct по каналам R6G, ROX.

11.5 В случае, если значения Ct по каналам R6G и ROX отсутствуют, образцу присваивается результат «ДНК ВПЧ 6 и 11 типов не выявлена».

11.6 При наличии значения Ct по каналам R6G/ROX определить выявленный тип ВПЧ с использованием таблицы 2 и рассчитать его концентрацию в копиях в одном миллилитре согласно формуле (2).

$$C_{HPV} = \frac{100000}{2^{\Delta Ct}} \quad (2)$$

где C_{HPV} – концентрация ДНК ВПЧ, копий/мл;

ΔCt – разность между значением Ct для исследуемого образца и значением Ct для ПК HPV по каналу R6G/ROX.

11.7 Рассчитать вирусную нагрузку в копиях ДНК ВПЧ на 10^5 клеток человека для выявленного типа ВПЧ согласно формуле (3).

$$VL = \frac{C_{HPV}}{C_ч} \cdot 100000 \quad (3)$$

где VL – вирусная нагрузка ДНК ВПЧ, копий/10^5 клеток;

C_{HPV} – концентрация ДНК ВПЧ, копий/мл;

$C_ч$ – концентрация ДНК человека, копий/мл.

11.8 Провести интерпретацию результатов для исследуемых образцов согласно таблице 7.

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

Таблица 7

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Качественное определение ДНК ВПЧ 6 и 11 типов	
Концентрация ДНК человека определена не менее 50000 копий/мл. По каналам R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в образце *не выявлены*.
Концентрация ДНК человека определена не менее 50000 копий/мл. По каналу R6G определено значение Ct.	В образце *выявлена* ДНК ВПЧ 6 типа.
Концентрация ДНК человека определена не менее 50000 копий/мл. По каналу ROX определено значение Ct.	В образце *выявлена* ДНК ВПЧ 11 типа.
Концентрация ДНК человека определена не менее 50000 копий/мл. По каналам R6G и ROX определены значения Ct.	В образце *выявлены* ДНК ВПЧ 6 и 11 типов.
Концентрация ДНК человека определена менее 50000 копий/мл, или по каналу Cy5 значение Ct отсутствует. По каналам R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат. Концентрация ДНК человека (ВК) в исследуемом образце недостаточна для анализа.
Количественное определение ДНК ВПЧ 6 и 11 типов	
Концентрация ДНК человека определена не менее 50000 копий/мл. По каналам R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в образце *не выявлены*.
Рассчитано значение концентрации ДНК ВПЧ X типа, укладывающееся в диапазон измерения набора.	ДНК ВПЧ X типа в образце *выявлена* в концентрации в пределах диапазона измерения набора.
Рассчитано значение концентрации ДНК ВПЧ X типа, не укладывающееся в диапазон измерения набора.	ДНК ВПЧ X типа в образце *выявлена* в концентрации вне пределов диапазона измерения набора.
Концентрация ДНК человека определена менее 50000 копий/мл, или по каналу Cy5 значение Ct отсутствует. По каналам R6G, ROX значения Ct отсутствуют.	Невалидный результат. Концентрация ДНК человека (ВК) в исследуемом образце недостаточна для анализа.

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей 8.

Таблица 8

Критерии оценки для контролей

Контроль	Норма
ОК	По каналам R6G, ROX, Cy5 значение Ct отсутствует, или по каналу Cy5 определено значение Ct, но рассчитанная концентрация[7] ДНК человека не больше 1000 копий/мл.
ПК HPV	По каналам R6G, ROX, Cy5 значение Ct определено не больше граничного[8].

12 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 9.

[7] В случае наличия значения Ct по каналу Cy5 произвести расчёт концентрации ДНК человека по формуле (1).

[8] Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

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

Таблица 9

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Для ПК значение Ct по каналу R6G и/или ROX и/или Cy5 отсутствует или определено больше граничного[9].	Некорректное проведение экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Для ОК по каналу R6G и/или ROX и/или Cy5 определено значение Ct, или по каналу Cy5 рассчитанная концентрация[10] ДНК человека больше 1000 копий/мл.	Контаминация реагентов или исследуемых образцов.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Невалидный результат для исследуемого образца (ДНК человека получена менее 50000 копий/мл, либо значение Ct по каналу Cy5 отсутствует).	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.
Для исследуемого образца/контролей определено значение Ct, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъёма (график представляет собой приблизительно прямую линию).	Некорректный выбор уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Некорректное проведение ПЦР.	Проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчёта базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца или, в случае некорректного вида графика для контроля, амплификацию и детекцию для всех исследуемых образцов и контролей.

13 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

13.1 Контроли, используемые в процессе исследования

Результаты исследования контролей должны соответствовать критериям оценки, указанным в разделе 11.

13.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК HPV 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 человека.

[9] Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

[10] В случае наличия значения Ct по каналу Cy5 произвести расчёт концентрации ДНК человека по формуле (1).

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

13.1.2 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. Невалидные результаты амплификации для ВК свидетельствует о присутствии ингибиторов ПЦР в образце, плохом качестве взятия и/или хранения биоматериала, некорректном проведении экстракции ДНК.

13.2 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.

13.3 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 дифференциации ДНК ВПЧ, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для количественного определения и дифференциации ДНК ВПЧ в биологическом материале методом ПЦР.

14 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА[11]

14.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 10.

Таблица 10

Предел обнаружения

Мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95 %-ый ДИ, копий/мл
ДНК ВПЧ 6 типа	1000	677 – 1360
ДНК ВПЧ 11 типа	1000	707 – 1329

14.2 Диапазон измерения и предел измерения

Диапазон измерения набора составляет от 2000 до 200000000 копий ДНК ВПЧ типов 6 и 11 в 1 мл исследуемого образца для всех заявленных видов биологического материала. Предел измерения набора совпадает с нижней границей диапазона измерения набора.

---

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

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

14.3 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 11, и геномной ДНК человека, а также ДНК ВПЧ выявляемых типов. 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 11

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
Candida albicans	ВПЧ 16 типа	ВПЧ 51 типа
Chlamydia trachomatis	ВПЧ 18 типа	ВПЧ 52 типа
Mycoplasma genitalium	ВПЧ 26 типа	ВПЧ 56 типа
Neisseria gonorrhoeae	ВПЧ 31 типа	ВПЧ 58 типа
Trichomonas vaginalis	ВПЧ 33 типа	ВПЧ 59 типа
Mycoplasma hominis	ВПЧ 35 типа	ВПЧ 66 типа
Escherichia coli	ВПЧ 39 типа	ВПЧ 68 типа
Treponema pallidum	ВПЧ 44 типа	ВПЧ 73 типа
Ureaplasma parvum	ВПЧ 45 типа	ВПЧ 82 типа

14.3.1 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 12.

Таблица 12

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 Contex Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объём 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 Contex Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объём в образце в условиях «наихудшего случая»
	Жидкость консервирую-	Метанол	Среда для жидкостной	90 %	

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

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
	щая BD SurePath™		цитологии		
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech HPV 6/11 (R)», отсутствует.

14.4 Прецизионность измерения

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

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

14.5 Правильность измерения

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

14.6 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 13.

Таблица 13

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
	положит.	отрицат.		
Мазки со слизистой оболочки влагалища в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	101	99	97,1 – 100	97,0 – 100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	100	99	97,0 – 100	97,0 – 100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в среде для жидкостной цитологии	101	100	97,1 – 100	97,0 – 100

14.7 Корреляция

Корреляция экспериментальных значений концентраций, полученных при исследовании образцов биологического материала с использованием набора реагентов «Amplitech HPV 6/11 (R)» и референтного набора реагентов, представлена на рисунке 1.

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

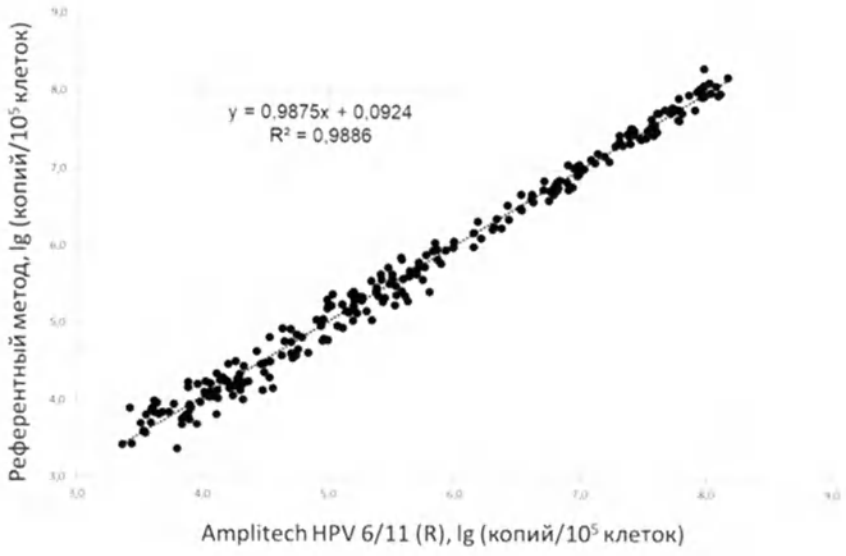

Рисунок 1

15 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

15.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты ПК HPV, ОК использовать до истечения срока годности набора. После снятия защитной плёнки Смесь HPV 6/11 (R) использовать в течение 24 ч.

Не допускается смешивать компоненты наборов разных серий и использовать набор по истечении срока годности.

15.2 Хранение

Набор в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от 2 °С до 8 °С и относительной влажности воздуха от 25 до 75 % в защищённом от солнечного света месте. Планшет со Смесью HPV 6/11 (R) беречь от влаги. После транспортирования допускается хранить набор не более 5 суток при температуре от 8 °С до 25 °С.

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.

15.3 Транспортирование

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

15.4 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 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

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

16 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
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ПК	– положительный контроль
ПЦР	– полимеразная цепная реакция

17 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.

18 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 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

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

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

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

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

19 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.

20 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

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

21 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Изготовитель		Код серии
	Дата изготовления		Использовать до
	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Не допускать воздействия солнечного света
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Не допускать воздействия влаги
	Номер по каталогу		Диапазон влажности

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

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

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера страниц				Всего страниц в документе	Номер документа	Подпись	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	–	2-20	–	–	–	19926214.072-23		04.12.23г
2	–	все	–	–	–	19926214.082-24		14.02.24

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

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 22 листа(-ов)
Генеральный директор
ООО «Амплитек»
_____ Ходяков А.В.
Подпись

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 22 ЛИСТОВ
«28» 03 2024 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавинус П.К.

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

КОПИЯ ВЕРНА

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

_____ А.В. Ходяков

14.02.2024

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ДНК ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ 6 И 11 ТИПОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» (AMPLITECH HPV 6/11 (R)) ПО ТУ 21.20.23-036-19926214-2023

Краткое руководство версии 14.02.24

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Заместитель генерального директора по науке ООО «Амплитек»

_____ А.С. Коновалов

14.02.2024

Научный сотрудник отдела разработка и адаптации продукции ООО «Амплитек»

_____ А.А. Филичева

14.02.2024

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

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

АМПЛИТЕК

Amplitech HPV 6/11 (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вирусов папилломы 6 и 11 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV 6/11 (R)) по ТУ 21.20.23-036-19926214-2023

КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО

IVD REF P026-0 LOT xxxx Σ 96

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

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

Материалом для проведения ПЦР-исследования служат образцы ДНК, экстрагированной из следующих видов биологического материала:

- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса) и мазки со слизистой оболочки влагалища, 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.

Экстракцию ДНК и внесение образцов экстрагированной ДНК в пробирки с реакционной Смесью HPV 6/11 (R) 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 и осадить капли на вортексе.

2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-ВПЧ (R)» и внести в него исследуемые образцы[1] и контроли согласно инструкции по его применению.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК HPV 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 Смесью HPV 6/11 (R) и снять с них защитную плёнку.

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

5 Установить отрезанные пробирки со Смесью HPV 6/11 (R) 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.

6 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 100 мкл. В случае одновременного запуска протоколов

[1] Для образцов соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии провести предобработку согласно инструкции по применению набора для проведения экстракции.

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

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.

7 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV 6/11 (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.

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

Цикл	Температура, °С	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	R6G[2], ROX, Cy5	

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 °С – 15 мин» для экономии времени.
3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

9 Поместить пробирки с реакционной смесью и элюатом в амплификатор и запустить программу.

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

Материалом для проведения ПЦР-исследования служат образцы ДНК, экстрагированной из следующих видов биологического материала:

- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса) и мазки со слизистой оболочки влагалища, 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.

Для экстракции ДНК необходимо использовать набор реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Амплитек»).

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 100 мкл.

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

2 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесью HPV 6/11 (R) и снять с них защитную плёнку.

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

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

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

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

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

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

5 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская пузырьков воздуха.

6 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV 6/11 (R)».

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

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

Цикл	Температура, °С	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	R6G[3], ROX, Cy5	

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 °С – 15 мин» для экономии времени.
3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

8 Поместить пробирки с реакционной смесью и элюатом в амплификатор и запустить программу.

Учёт и интерпретация результатов

1 Результаты интерпретировать на основании наличия (отсутствия) Ct (кривых накопления флуоресцентного сигнала, пересекающих пороговую линию) по детектируемым каналам в соответствии с таблицей:

Наличие Ct по каналу для флуорофора	R6G	ROX	Cy5
Выявлена ДНК	ВПЧ 6 типа	ВПЧ 11 типа	ДНК человека

Примечание – Если концентрация ДНК человека для исследуемого образца получена менее 50000 копий/мл, либо значение Ct по каналу Cy5 отсутствует, образцу присваивается результат **«Невалидный».**

2 Количественное определение выявленного типа ВПЧ и ДНК человека рассчитать с помощью алгоритма, приведенного в инструкции к набору реагентов.

3 Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей, приведённой ниже:

Образец	Граничное значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора		
	R6G	ROX	Cy5
ПК HPV	≤ 36	≤ 36	≤ 36
ОК	Значение Ct отсутствует, или по каналу Cy5 определено значение Ct, но рассчитанная концентрация ДНК человека не больше 1000 копий/мл		

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

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

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера страниц				Всего страниц в документе	Номер документа	Подпись	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	–	все	–	–	–	1992б214.082-24		14.02.24

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

Пронумеровано, скреплено и прошито

5 (пять)

лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с ограниченной ответственностью «Амплитек»

_____ А.В. Ходяков

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

КОПИЯ ВЕРНА

ООО «Амплитек»
Россия, 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

АМПЛИТЕК

ПАСПОРТ № 825-24

Amplitech HPV 6/11 (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вирусов папилломы 6 и 11 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV 6/11 (R)) по ТУ 21.20.23-036-19926214-2023

REF P026-0 LOT 0825 2024-02-19 2025-02-19

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

Условия хранения: в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 °С до 8 °С и относительной влажности воздуха от 25 до 75 % в защищённом от солнечного света месте. Планшет со Смесью HPV 6/11 (R) беречь от влаги. После транспортирования допускается хранить набор не более 5 суток при температуре от 8 °С до 25 °С.

Контроль качества набора проведён по ТУ 21.20.23-036-19926214-2023.

Состав набора и внешний вид компонентов

Лот компонента	Норма			Результат контроля
	наименование	количество	внешний вид	
00002	Планшет со Смесью HPV 6/11 (R)	1 шт.	96-луночный делимый планшет, заклеенный защитной плёнкой, с реагентом в виде геля (от светло-розового до красного цвета) на дне пробирок	Соответствует
00061	Плёнки для планшета	2 шт.	Клейкие плёнки	Соответствует
00038	ОК	0,8 мл х 1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
00012	ПК HPV	0,8 мл х 1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
–	Инструкция по применению	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/	Соответствует
–	Краткое руководство	1 шт.	В бумажном виде	Соответствует
–	Паспорт	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/	Соответствует

Упаковка набора

Показатель	Норма	Результат контроля
Вид первичной и вторичной упаковки	Соответствует требованиям ТУ.	Соответствует
Отсутствие видимых дефектов	Отсутствие дефектов	Соответствует

Маркировка набора

Показатель	Норма	Результат контроля
Наличие информации на внутренней упаковке компонентов набора и внешней упаковке набора в соответствии с требованиями ТУ	Информация соответствует требованиям ТУ.	Соответствует

Функциональные характеристики набора

Показатель	Норма	Результат контроля
Предел обнаружения		
Выявление ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в концентрации 1000 копий/мл	ДНК ВПЧ 6 и 11 типов обнаружены.	Соответствует
Валидность результатов тестирования для исследуемых образцов	Полученное расчётное значение концентрации ДНК человека не менее 50000 копий/мл.	Соответствует

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

Показатель	Норма	Результат контроля
Валидность результатов тестирования для контролей исследования (ОК, ПК)	Результаты соответствуют критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора.	Соответствует
Предел измерения		
Количественное определение ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в концентрации[1] 6300 копий/мл	Полученное расчётное значение концентрации ДНК ВПЧ 6 и 11 типов в диапазоне от 2000 до 20000 копий/мл.	Соответствует
Валидность результатов тестирования для исследуемых образцов	Полученное расчётное значение концентрации ДНК человека не менее 50000 копий/мл.	Соответствует
Валидность результатов тестирования для контролей исследования (ОК, ПК)	Результаты соответствуют критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора.	Соответствует

Заключение: Набор указанного лота соответствует требованиям ТУ 21.20.23-036-19926214-2023.

Дата выдачи паспорта: 20.02.2024

Руководитель ОКК, Романенкова Е.С.

Лыкова М. В.

по приказу 20240206/001 от 06 февраля 2024 года

ОТДЕЛ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

[1] Нижняя граница диапазона измерения набора плюс 0,5 lg.

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

Пронумеровано, скреплено и прошито

2 (два)

лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с ограниченной ответственностью «Амплитек»

_____А.В. Ходяков

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