

Amplitech HPV+5 (R)

Набор реагентов для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы 26, 44, 53, 73 и 82 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV+5 (R)) по ТУ 20.59.52-056-19926214-2025

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

REF

P041-0

 48

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	4
3 ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ	4
4 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ	4
5 СОСТАВ	5
6 ПРИНЦИП МЕТОДА	5
6.1 Прослеживаемость значений положительного контроля ПК HPV	6
7 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
8 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
8.1 Потенциальный риск применения	7
8.2. Прямой риск применения	7
8.3 Косвенный риск применения	7
8.4 Особые указания и меры предосторожности	8
9 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	8
10 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	10
10.1 Автоматизированная экстракция ДНК и подготовка к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1». Проведение ПЦР и детекции	10
10.2 Экстракция ДНК и ручная подготовка к проведению ПЦР. Проведение ПЦР и детекции	12
11 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	13
12 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ	16
13 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	17
13.1 Контроли, используемые в процессе исследования	17
13.1.1 Отрицательный и положительный контроли	17
13.1.2 Внутренний контроль	17
13.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	17
13.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований	17
14 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	18
14.1 Предел обнаружения	18
14.2 Диапазон измерения	18
14.3 Аналитическая специфичность	18
14.4 Прецизионность измерения	19
14.5 Правильность измерения	19
14.6 Диагностические характеристики	20
14.7 Корреляция	20
15 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	21
15.1 Срок годности	21
15.2 Хранение	21
15.3 Транспортирование	21
15.4 Эксплуатация	21
16 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	21
17 БИБЛИОГРАФИЯ	22
18 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	22
19 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23
20 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	23
21 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	23

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 17.09.25 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы 26, 44, 53, 73 и 82 типов в биологическом материале человека методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech HPV+5 (R)) по ТУ 20.59.52-056-19926214-2025» (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech HPV+5 (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» (ВПЧ НКР) и «ВПЧ высокого канцерогенного риска» (ВПЧ ВКР).

ВПЧ ВКР являются главным этиологическим фактором развития рака шейки матки и предшествующей ему тяжёлой дисплазии. ДНК ВПЧ ВКР обнаруживаются в 95 % случаев рака шейки матки. К основным типам ВПЧ ВКР, выявляемым в рутинной лабораторной практике, относятся 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68. Помимо выявления указанных 14 типов ВПЧ ВКР, в ряде случаев, используются дополнительные тесты для определения различных комбинаций редких типов (26, 53, 73, 82), входящих в группу 2В (возможно канцерогенные, которые также ассоциируются с развитием онкопатологии). Выявление данным набором реагентов 26, 53, 73 и 82 типов ВПЧ в дополнение к основным типам ВПЧ высокого риска расширяет возможности диагностики и помогает выявлять инфекции, которые не определяются в наборах, ориентированных только на основные 14 типов ВПЧ ВКР.

К ВПЧ низкого канцерогенного риска относятся 6, 11, 36, 42, 43, 44, 46, 47 и 50 типы. ВПЧ низкого онкогенного риска ассоциированы с доброкачественной пролиферацией кожи и слизистых оболочек в виде аногенитальных (венерических) бородавок (экзофитных или остроконечных и эндофитных кондилом). При этом, более 90% случаев клинических форм низкоонкогенной папилломовирусной инфекции сопряжено с выявлением 6 и 11 генотипов ВПЧ. На ВПЧ 44 типа, выявляемого данным набором, приходится чуть менее 10% случаев. Таким образом, выявление 44 типа ВПЧ расширяет возможности диагностики и помогает выявлять инфекции, которые не определяются в наборах, ориентированных только на 6 и 11 типы ВПЧ НКР.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения и генотипирования ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого (26, 53, 73, 82 типов) и низкого (44 типа) канцерогенного риска в биологическом материале человека методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

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

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

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro*, скрининга и мониторинга ВПЧ-инфекции, вызываемой типами ВПЧ 26, 44, 53, 73, 82 в случае недостаточности диагностики основных 14 генотипов ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов) и 2 генотипов ВПЧ НКР (6 и 11 типов).

Набор применяется для исследования образцов, полученных от женщин в возрасте от 18 до 65 лет.

2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор предназначен для применения в клинической лабораторной диагностике для выявления, количественного определения и генотипирования ДНК ВПЧ 26, 44, 53, 73 и 82 типов. Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования ВПЧ указанных 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 клинко-диагностических лабораториях.

3 ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор рекомендуется к применению:

- для диагностики ВПЧ-инфекции, вызываемой типами ВПЧ 26, 44, 53, 73 и 82;
- при ВПЧ-скрининге в случаях, когда недостаточно выявления основных 14 генотипов ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов) и 2 генотипов ВПЧ НКР (6 и 11 типов);
- для диспансерного мониторинга пациентов с ранее подтверждённой ВПЧ-инфекцией, вызванной типами 26, 44, 53, 73 или 82.

4 ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказания к применению набора отсутствуют.

5 СОСТАВ

Состав набора¹ указан в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Состав набора

Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Планшет с реагентами HPV+5 (R)	–	1 шт.	96-луночный делимый планшет, заклеенный защитной плёнкой, с реагентами в виде геля на дне пробирок
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/

Таблица 2

Расположение реагентов в планшете

Ряды пробирок	Реагент	Внешний вид
A, C, E, G	Смесь HPV+5 (R)-1 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-голубого до синего цвета на дне пробирок
B, D, F, H	Смесь HPV+5 (R)-2 (Реакционная ПЦР-смесь со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами, термостабильной ДНК-полимеразой, дНТФ, солями)	Гель от светло-розового до красного цвета на дне пробирок

6 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов ПЦР и отдельное выявление мишеней (ДНК ВПЧ определённого типа и эндогенного внутреннего контроля (ВК)) обеспечивается применением в двух реакционных смесях для ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

¹ Набор упакован в коробку из картона.

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.

Каналы детекции мишеней³

Смесь	Канал детекции сигнала от флуорофора			
	FAM	R6G ⁴	ROX	Cy5.5
Смесь HPV+5 (R)-1	ДНК ВПЧ 26 (E6 gene)	ДНК ВПЧ 82 (E6 gene)	ДНК ВПЧ 44 (E4 gene)	ДНК эндогенного ВК (human β -globin gene)
Смесь HPV+5 (R)-2	–	ДНК ВПЧ 73 (E6 gene)	ДНК ВПЧ 53 (E6 gene)	ДНК эндогенного ВК (human β -globin gene)

Линейная зависимость между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговым циклом, 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 всех выявляемых типов в ПК HPV составляет $5 \lg \pm 0,5 \lg$ копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

7 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 4.

Таблица 4

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 «Амплицек», РУ № РЗН 2022/17670); - дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции ДНК; - автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» («Амплицек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); - термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, исполнения C1000 Touch в комплекте с модулем реакционным оптическим CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США, РУ № ФСЗ 2008/03399);	- набор реагентов для экстракции ДНК: «ДНК-ВПЧ (R)» (формы выпуска 1 и 2) (ООО «Амплицек», РУ № РЗН 2022/17670); - дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции ДНК; - ПЦР-бокс; - вортекс (например, встряхиватель лабораторный медицинский "ЦВ-2500" (ООО «НПФ Хеликон», Россия, РУ № РЗН 2023/21055); - дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 20 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681);

³ В скобках указана область амплификации мишени.

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

Необходимое оборудование и материалы в случае	
автоматизированной подготовки к проведению ПЦР	ручной подготовки к проведению ПЦР
• амплификатор детектирующий «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229); • амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени (Life Technologies Holdings Pte. Ltd. Сингапур; РУ № РЗН 2019/8446); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • ёмкость для сброса использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.	• штатив для ПЦР-планшетов (РУ № ФСЗ 2011/10287); • термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, исполнения C1000 Touch в комплекте с модулем реакционным оптическим CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США, РУ № ФСЗ 2008/03399); • амплификатор детектирующий «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229); • амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени (Life Technologies Holdings Pte. Ltd. Сингапур; 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 РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Риски возникновения опасных последствий при использовании набора определены в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2021.

8.1 Потенциальный риск применения

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

8.2. Прямой риск применения

Работа с набором должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р ИСО 15190 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При обращении с реагентами необходимо соблюдать технику безопасности, при попадании на кожу или слизистые требуют промывания водой и, при необходимости, обращения к врачу.

8.3 Косвенный риск применения

Косвенные риски связаны с возможностью получения недостоверных результатов, которые могут быть вызваны:

- нарушением условий транспортировки и хранения набора;
- использованием набора после истечения срока годности;
- несоблюдением инструкции по применению.

8.4 Особые указания и меры предосторожности

- 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 (медицинские отходы класса Б).

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

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

- Не использовать набор по истечении срока годности.

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

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

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

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

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

9 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение 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 5.

Таблица 5

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, РУ № 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 вортиксованием.

Транспортирование и хранение полученного исследуемого материала осуществляется следующим образом:

– материал, помещённый в транспортную среду «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, РУ № ФСР 2009/05514), в соответствии с инструкцией при следующих температурных режимах:

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

– материал, помещённый в среду для проведения жидкостной цитологии BD SurePath™ (Becton Dickinson and Company, США, РУ № РЗН 2013/1335), в соответствии с инструкцией при следующих температурных режимах:

- при комнатной температуре (от 15 °C до 30 °C) – до 4 недель;
- при температуре от 2 °C до 10 °C – 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 планшета с реакционными ПЦР-смесями провести с использованием автоматической станции «Amplitech E1» (ООО «Ампитек») согласно руководству по её эксплуатации и процедуре, указанной ниже. Для экстракции ДНК необходимо использовать форму выпуска 1 набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Ампитек»).

10.1.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ОК и ПК HPV и осадить капли на вортексе при скорости 2500 об/мин.

10.1.2 Подготовить картридж с реагентами из набора «ДНК-ВПЧ (R)» и внести в него исследуемые образцы⁵ 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 Смесями HPV+5(R)-1 и HPV+5(R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

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

Рисунок 1 – Схема планшета с реагентами

⁵ Для образцов соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 9.

10.1.5 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

10.1.6 Установить отрезанные пробирки со Смесьями на рабочий стол автоматической станции в адаптер для контейнеров для элюата.

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

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

Примечание – В протоколе указать объём элюции 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+5 (R)».

ВНИМАНИЕ! Запуск протокола необходимо провести в течение 30 минут после установки всех реагентов на рабочем столе станции.

10.1.8 После завершения протоколов вынуть адаптер с пробирками и заклеить их плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV+5 (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 его на защитную плёнку. Пробирки с реакционной смесью с внесённым элюатом не подлежат хранению. Необходимо незамедлительно произвести запуск реакции амплификации.

10.1.9 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 подготовке к проведению ПЦР с использованием автоматической станции «Amplitech E1»

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	2 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G ⁶ , ROX, Cy5.5	

Примечания

- 1) При программировании амплификатора указать объём реакции: 25 мкл.
- 2) При одновременном проведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.
- 3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

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

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

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

10.2.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ОК и ПК HPV и осадить капли на вортексе при скорости 2500 об/мин.

10.2.2 Провести экстракцию ДНК из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «ДНК-ВПЧ (R)» (ООО «Ампитек») согласно инструкции по его применению.

Примечание – Элюцию провести в объеме 100 мкл.

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

10.2.3 Отрезать от планшета необходимое количество пробирок со Смесями HPV+5 (R)-1, HPV+5 (R)-2, учитывая, что на каждый исследуемый и контрольный образец должно приходиться по одной пробирке каждого вида Смеси. Схема планшета представлена на рисунке 1.

10.2.4 Снять с отрезанных пробирок защитную плёнку.

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

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

ВНИМАНИЕ! Каждый образец ДНК вносится в две пробирки с разными реакционными Смесями, т.е. для каждого образца по одной пробирке с каждым видом Смеси (HPV+5 (R)-1, HPV+5 (R)-2).

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

10.2.7 Перемешать содержимое пипетированием, не допуская образования пузырьков воздуха.

10.2.8 После внесения образцов ДНК заклеить пробирки плёнкой, входящей в состав набора «Amplitech HPV+5 (R)».

ВНИМАНИЕ! Пробирки после внесения ДНК не переворачивать и не встряхивать, чтобы избежать разбрызгивания содержимого по стенкам пробирок и попадания его на защитную плёнку. Пробирки с реакционной смесью с внесенным элюатом не подлежат хранению. Необходимо незамедлительно произвести запуск реакции амплификации.

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

Программа ПЦР и детекции при ручной подготовке к проведению ПЦР

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	42
	60	20 с	FAM, R6G ⁷ , ROX, Cy5.5	

Примечания

- 1) При программировании амплификатора указать объем реакции: 25 мкл.
- 2) При одновременном проведении в одном приборе тестов только для выявления ДНК допускается исключить из указанной программы цикл «50 °C – 15 мин» для экономии времени.
- 3) Детекция может назначаться по другим каналам, помимо указанных, при одновременном проведении в одном приборе нескольких тестов с использованием указанной программы.

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

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 для каждого вида смеси согласно формуле (1).

$$C_{\text{ч}} = \frac{100000}{2^{\Delta C_t}} \quad (1)$$

где $C_{\text{ч}}$ – концентрация ДНК человека, копий/мл;

ΔC_t – разность между значением порогового цикла (C_t) для исследуемого образца и значением C_t для ПК HPV по каналу Cy5.5.

- 11.3 В случае, если рассчитанная концентрация ДНК человека для исследуемого образца для любой из Смесей получена менее 50000 копий/мл, либо значение C_t по каналу Cy5.5 отсутствует, образцу присваивается результат «Невалидный».
- 11.4 При получении валидного результата для образца проверить наличие значения C_t для каждого вида Смеси по каналам FAM, R6G, ROX.
- 11.5 В случае, если значения C_t по каналам FAM, R6G, ROX для всех Смесей отсутствуют, образцу присваивается результат «ДНК ВПЧ не выявлена».
- 11.6 При наличии значения/значений C_t по каналам FAM/R6G/ROX для любой из Смесей определить выявленный тип/типы ВПЧ с использованием таблицы 3 и рассчитать его концентрацию в копиях в одном миллилитре согласно формуле (2).

⁷ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров HEX и VIC.

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

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

ΔCt – разность между значением Ct для исследуемого образца и значением Ct для ПК HPV по каналу FAM/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 Рассчитать суммарную вирусную нагрузку в lg копий ДНК ВПЧ ВКР 26, 53, 73, 82 типов на 10^5 клеток человека для выявленных типов ВПЧ ВКР согласно формуле (4).

$$VL_{\text{сум}} = \lg \sum C_{HPV} \quad (4)$$

где $VL_{\text{сум}}$ – суммарная вирусная нагрузка ДНК ВПЧ ВКР, lg копий/ 10^5 клеток человека;

$\lg \sum C_{HPV}$ – сумма концентраций выявленных типов ДНК ВПЧ ВКР, копий/ 10^5 клеток человека.

- 11.9 Провести интерпретацию результатов для исследуемых образцов согласно таблицам 8 и 9.

Таблица 8

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
ДНК ВПЧ не выявлена	ДНК ВПЧ выявляемых типов в исследуемом образце не выявлена.
Выявлена ДНК ВПЧ в концентрации lg X копий ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток человека, У типа	Исследуемый образец содержит ДНК ВПЧ определённого типа в указанной концентрации.
Невалидный	Концентрация ДНК человека (ВК) в исследуемом образце недостаточна для анализа.

Интерпретация значений суммарной вирусной нагрузки⁸ для исследуемых образцов при выявлении ДНК ВПЧ ВКР

Суммарная вирусная нагрузка, Ig копий ДНК ВПЧ ВКР 26, 53, 73, 82 типов/10⁵ клеток человека	Интерпретация
Менее 3	Клинически малозначимая величина
От 3 до 5	Клинически значимая величина. Существует риск дисплазии.
Более 5	Клинически значимая величина. Высокая вероятность дисплазии.

ВНИМАНИЕ! Для ВПЧ 44 типа основную клиническую значимость имеет качественное исследование. Тем не менее, данные о вирусной нагрузке могут быть использованы при мониторинге эффективности терапии - снижение вирусной нагрузки может свидетельствовать об элиминации вирусной инфекции.

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей 10.

Таблица 10

Критерии оценки для контролей

Контроль	Норма
Смесь HPV+5 (R)-1	
ОК	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значение Ct отсутствует, или по каналу Cy5.5 определено значение Ct, но рассчитанная концентрация ⁹ ДНК человека не больше 1000 копий/мл.
ПК HPV	По каналам FAM, R6G, ROX, Cy5.5 значение Ct определено не больше граничного ¹⁰ .
Смесь HPV+5 (R)-2	
ОК	По каналам R6G, ROX, Cy5.5 значение Ct отсутствует, или по каналу Cy5.5 определено значение Ct, но рассчитанная концентрация ДНК человека не больше 1000 копий/мл.
ПК HPV	По каналам R6G, ROX, Cy5.5 значение Ct определено не больше граничного.

⁸ Суммарная вирусная нагрузка рассчитывается без учета концентрации ДНК вируса папилломы человека 44 типа.

⁹ В случае наличия значения Ct по каналу Cy5.5 произвести расчёт концентрации ДНК человека по формуле (1).

¹⁰ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

12 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 11.

Таблица 11

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Для ПК на Смеси HPV+5 (R)-1 значение Ct по каналу FAM и/или R6G и/или ROX и/или Cy5.5 отсутствует или определено больше граничного ¹⁰ .	Некорректное проведение экстракции ДНК и/или ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Для ПК на Смеси HPV+5 (R)-2 значение Ct по каналу R6G и/или ROX и/или Cy5.5 отсутствует или определено больше граничного.		
Для ОК на Смеси HPV+5 (R)-1 по каналу FAM и/или R6G и/или ROX определено значение Ct или по каналу Cy5.5 рассчитанная концентрация ¹¹ ДНК человека больше 1000 копий/мл	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции ДНК.
Для ОК на Смеси HPV+5 (R)-2 по каналу R6G и/или ROX определено значение Ct или по каналу Cy5.5 рассчитанная концентрация ДНК человека больше 1000 копий/мл.		
Невалидный результат для исследуемого образца (рассчитанная концентрация ДНК человека для любой из Смесей менее 50000 копий/мл, либо значение Ct по каналу Cy5.5 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.

¹¹ В случае наличия значения Ct по каналу Cy5.5 произвести расчёт концентрации ДНК человека по формуле (1).

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.

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 НАБОРА¹²

14.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора указан в таблице 12.

Таблица 12

Предел обнаружения		
Мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95 %-ый ДИ, копий/мл
ДНК ВПЧ 26 типа	1000	547-1343
ДНК ВПЧ 44 типа	1000	559-1472
ДНК ВПЧ 53 типа	1000	611-1623
ДНК ВПЧ 73 типа	1000	534-1479
ДНК ВПЧ 82 типа	1000	613-1571

14.2 Диапазон измерения

Диапазон измерения набора составляет от 2000 до 200 000 000 копий ДНК ВПЧ типов 26, 44, 53, 73, 82 в 1 мл исследуемого образца для всех заявленных видов биологического материала. Предел измерения набора совпадает с нижней границей диапазона измерения набора.

Коэффициент вариации (CV, %) не превышает 10% на нижней границе диапазона измерения и 2% на верхней границе диапазона измерения.

14.3 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 13, 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 13

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Наименование	Наименование
<i>Candida albicans</i>	ВПЧ 6 типа	ВПЧ 45 типа
<i>Chlamydia trachomatis</i>	ВПЧ 11 типа	ВПЧ 51 типа
<i>Mycoplasma genitalium</i>	ВПЧ 16 типа	ВПЧ 52 типа
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ВПЧ 18 типа	ВПЧ 56 типа
<i>Trichomonas vaginalis</i>	ВПЧ 31 типа	ВПЧ 58 типа
<i>Mycoplasma hominis</i>	ВПЧ 33 типа	ВПЧ 59 типа
<i>Escherichia coli</i>	ВПЧ 35 типа	ВПЧ 66 типа
<i>Ureaplasma parvum</i>	ВПЧ 39 типа	ВПЧ 68 типа

¹² Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартных образцов предприятия, содержащих векторы со специфическими последовательностями выявляемых типов ДНК ВПЧ.

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 14.

Таблица 14

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	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	
Соскобы эпителия в среде для жидкостной цитологии	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат	Антисептическое средство для местного применения	0,001 %	10 % от рекомендованной дозы
	Гель-смазка интимная	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Жидкость консервирующая BD SurePath™	Метанол	Среда для жидкостной цитологии	90 %	
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech HPV+5 (R)», отсутствует.

14.4 Прецизионность измерения

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

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

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 15.

Таблица 15

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
	положит.	отрицат.		
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и мазки со слизистой оболочки влагалища в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	203	199	98,5 – 100	98,5 – 100
Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в среде для жидкостной цитологии	101	98	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+5 (R)» и референтного набора реагентов, представлена на рисунке 2.

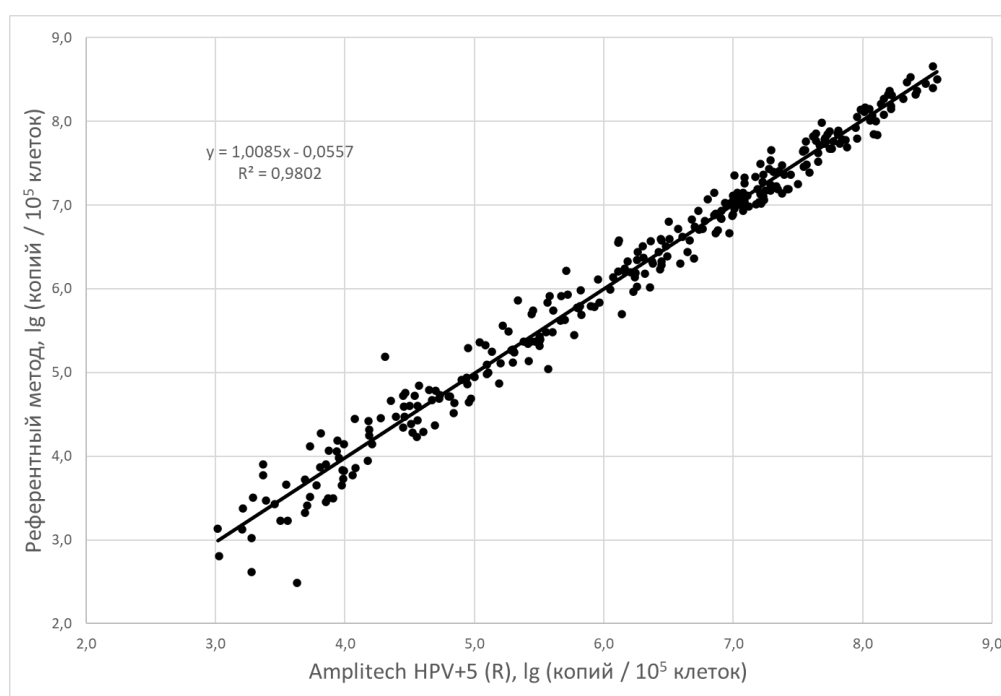


Рисунок 2

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. Планшет с реагентами HPV+5 (R) после снятия защитной плёнки хранить не более 30 минут.

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 с реагентами HPV+5 (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.

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. Повторное применение использованных для исследования реагентов не допускается.

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

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
ВПЧ ВКР	– вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
ВПЧ НКР	– вирус папилломы человека низкого канцерогенного риска
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	– 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 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального использования

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

ГОСТ Р ИСО 17511-2022 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Требования к установлению метрологической прослеживаемости значений, приписанных калибраторам, контрольным материалам и образцам биологического материала человека

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

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