



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ТестГен»
А.Н. Тороповский
«04» октября 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**Набор реагентов для количественного определения
РНК вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1)
в образцах плазмы крови методом полимеразной
цепной реакции в реальном времени с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией с
обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-1-тест-Q»
по ТУ 21.20.23-041-97638376-2021**

ТУ 21.20.23-041-97638376-2021

Содержание

Список сокращений	3
Введение.....	4
1. Назначение.....	5
2. Принцип метода	6
3. Состав набора реагентов	8
4. Характеристики набора реагентов.....	10
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов	26
6. Меры предосторожности при работе с набором.....	27
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов.....	29
8. Анализируемые образцы	30
9. Подготовка компонентов набора для исследования.....	35
10. Проведение анализа	36
11. Регистрация и интерпретация результатов.....	38
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов	42
13. Утилизация	43
14. Гарантийные обязательства, контакты	44
Приложение А.....	45

Список сокращений

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	полимеразная цепная реакция
РНК	рибонуклеиновая кислота
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВН	вирусная нагрузка
АРТ	антиретровирусная терапия

Введение

ВИЧ-инфекция – инфекционное антропонозное хроническое заболевание с контактным путем передачи, вызываемое вирусом иммунодефицита человека, медленно прогрессирующее и характеризующееся поражением иммунной системы с развитием СПИДа. Клиническими проявлениями несостоятельности иммунной защиты являются оппортунистические инфекции, злокачественные новообразования, дистрофические и аутоиммунные процессы, что при отсутствии специфического лечения ведет к гибели инфицированного человека¹.

Целевой анализ: специфичный участок геномной РНК ВИЧ-1 (HIV-1) – фрагмент гена *pol*.

Научная обоснованность целевого анализа заключается в его специфичности (уникальности последовательности РНК) в отношении генома ВИЧ-1.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – представитель семейства ретровирусов, рода лентивирусов. Геном представлен молекулой РНК и включает около 9000 нуклеотидов. Выявление РНК ВИЧ свидетельствует о репликации вируса в организме и является методом диагностики заболевания. Генетический материал вируса можно обнаружить с помощью ОТ-ПЦР через 1–3 недели после заражения. Количественное определение вирусной нагрузки используется при выборе препаратов в составе схем антиретровирусной терапии, для оценки эффективности антиретровирусной терапии и с прогностической целью¹.

Область применения набора реагентов: клиническая лабораторная диагностика инфекционных заболеваний.

Показания и противопоказания к применению

Показания к применению: для установления диагноза ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии, мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и/или эффективности антиретровирусной терапии, а также рекомендуется при постановке на диспансерный учет¹.

¹ Клинические рекомендации «ВИЧ-инфекция у взрослых», год утверждения: 2020. Министерство здравоохранения Российской Федерации.

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

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия: популяционных, демографических аспектов применения набора реагентов «HIV-1-тест-Q» не выявлено.

Стерильность: изделие не стерильно.

1. Назначение

Назначение: набор реагентов «HIV-1-тест-Q» предназначен для количественного определения РНК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1, HIV-1) методом одностадийной полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в пробе РНК, выделенной из плазмы крови человека (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), у пациентов для установления диагноза ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии, мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и/или эффективности антиретровирусной терапии, а также рекомендуется при постановке на диспансерный учет.

Функциональное назначение: полученные результаты могут использоваться для диагностики ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии, мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и/или эффективности антиретровирусной терапии, а также рекомендуется при постановке на диспансерный учет.

Потенциальные потребители медицинского изделия

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

2. Принцип метода

Метод

Одностадийная полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ).

Тип анализируемого образца

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

Принцип определения

Количественное определение РНК вируса иммунодефицита человека методом мультиплексной ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в пробе РНК, выделенной из клинического материала, включает в себя три этапа:

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

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

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

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

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

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

Для построения калибровочной прямой, необходимой для определения концентраций геномной РНК ВИЧ-1 в исследуемом образце, используются калибровочные образцы КО-1 и КО-2.

Таблица 1 – Анализируемые мишени

Канал, соответствующий флуорофору	
FAM / Green	HEX / Yellow
РНК ВИЧ-1	ВКО

Ограничения метода

Возможная причина получения ложноположительного результата – контаминация на этапе выделения РНК или проведения реакции ОТ-ПЦР. Ложноположительный результат может быть выявлен с помощью отрицательного контрольного образца.

Набор реагентов по истечении срока годности применению не подлежит.

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

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

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

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

3. Состав набора реагентов

Набор реагентов «HIV-1-тест-Q» выпускается в одной форме комплектации – «HIV-1-тест-Q».

Количество анализируемых проб

Набор реагентов «HIV-1-тест-Q» рассчитан на 100 реакций, что соответствует определению 88 исследуемых образцов, калибровочных образцов, отрицательных и положительных контрольных образцов при единичном запуске амплификатора на 96 лунок или 11 единичным постановкам исследуемых образцов с калибровочными, отрицательными и положительными контрольными образцами в каждой постановке.

Состав набора реагентов

Таблица 2 – Состав набора реагентов «HIV-1-тест-Q»

№ пп	Название реагента	Описание	Количество, объем
1.	ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 500 мкл
2.	Смесь олигонуклеотидов	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 500 мкл
3.	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 165 мкл
4.	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 1 100 мкл
5.	ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 1 000 мкл
6.	КО-1	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки по 2 000 мкл
7	КО-2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки по 2 000 мкл

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

ОТ-ПЦР-буфер готов к использованию и представляет собой реагент, содержащий все основные компоненты, включая ревертазу с «теплым стартом», термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», дНТФ, оптимизированный буфер.

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

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

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

Калибровочный образец КО-1 готов к использованию и содержит выявляемый набором реагентов специфический фрагмент генома вируса ВИЧ-1 с концентрацией 1×10^6 копий/мл в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА).

Калибровочный образец КО-2 готов к использованию и содержит выявляемый набором реагентов специфический фрагмент генома вируса ВИЧ-1 с концентрацией 3×10^3 копий/мл в ТЕ-буфере (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА).

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

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

4. Характеристики набора реагентов

4.1. Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Набор реагентов «HIV-1-тест-Q»

Наименование показателя	Характеристики и нормы	Пункт ТУ
1. Технические характеристики		
1. Внешний вид		
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
Смесь олигонуклеотидов	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	Раздел 7, пункт 7.6
ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
КО-1	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
КО-2	Прозрачная бесцветная жидкость	Раздел 7, пункт 7.6
1.2. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-041-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
1.3. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 21.20.23-041-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
1.4. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 21.20.23-041-97638376-2021	Раздел 7, пункт 7.9
2. Функциональные характеристики		
2.1 Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM Ct $\leq$ 30, HEX Ct $\leq$ 30.	Раздел 7, пункт 7.7.2
2.2 Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналу FAM Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, а по каналу HEX Ct $\leq$ 34	Раздел 7, пункт 7.7.2
2.3 Прохождение реакции в пробирках с КОС	В пробирках с КОС по каналу FAM Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует) или Ct>35, а по каналу HEX Ct $\leq$ 34	Раздел 7, пункт 7.7.2
2.4 Прохождение реакции в пробирках с КОЧ	В пробирках с КОЧ по каналу FAM во всех повторях (не менее 4) Ct $\leq$ 35 и при значении стандартного отклонения в	Раздел 7, пункт 7.7.2

	повторах КОЧ не более 5%, а по каналу HEX $Ct \leq 34$	
2.5 Тест на «линейность»	Коэффициент корреляции КО-1, КО-2 и стандартного образца (СО) не менее 0,98	Раздел 7, пункт 7.7.2
2.6 Тест на прецизионность: коэффициент вариации (КВ) в условиях повторяемости	Коэффициент вариации Ct у повторов каждого калибровочного образца КО-1 и КО-2 в условиях повторяемости составляет не более 5%.	Раздел 7, пункт 7.7.2
2.6 Тест на правильность определения концентрации	Полученное значение концентрации РНК ВИЧ-1 должно соответствовать концентрации, приведенной в паспорте образца, с допуском $\pm 0,5 \lg$ концентрации.	Раздел 7, пункт 7.7.2

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

4.2 Характеристики аналитической эффективности

4.2.1 Аналитическая специфичность

Специфичен по отношению к РНК вируса иммунодефицита человека 1 групп М (субтипы А–L), О, N, Р.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце геномной НК следующих организмов и вирусов: вирусы гепатитов А, В, С и D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус герпеса 6 и 8 типов, вирус ветряной оспы, парвовирус В19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*.

4.2.2 Предел обнаружения

Предел обнаружения был верифицирован с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194.

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

- Дтпрайм – 17,5 копий/мл (95%ДИ: 16,1 – 18,9 копий/мл), 30,6 МЕ/мл (95%ДИ: 29,2 – 32,0 МЕ/мл)

- CFX 96 – 17,3 копий/мл (95%ДИ: 15,8 – 18,7), 30,2 МЕ/мл (95%ДИ: 28,7 – 31,6 МЕ/мл)

- Rotor-Gene Q – 16,7 копий/мл (95%ДИ: 15,2 – 18,1), 29,3 МЕ/мл (95%ДИ: 27,8 – 30,7 МЕ/мл)

- Quant Studio 5 – 17,7 копий/мл (95%ДИ: 16,2 – 19,1), 31,0 МЕ/мл (95%ДИ: 29,5 – 32,4 МЕ/мл)

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

4.2.3 Предел количественного определения

Предел количественного определения был верифицирован с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194.

На основании результатов исследования определен предел количественного определения (LOQ) РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с частотой выявления 95 % для амплификатора:

- Дтпрайм – 48,5 копий/мл (95%ДИ: 42,1 – 54,9 копий/мл), 84,9 МЕ/мл (95%ДИ: 74,1 – 95,6 МЕ/мл)

- CFX 96 – 47,8 копий/мл (95%ДИ: 41,3 – 54,2), 83,6 МЕ/мл (95%ДИ: 72,8 – 94,3 МЕ/мл)

- Rotor-Gene Q – 51,8 копий/мл (95%ДИ: 45,3 – 58,2), 90,7 МЕ/мл (95%ДИ: 79,9 – 101,4 МЕ/мл)

- Quant Studio 5 – 51,1 копий/мл (95%ДИ: 44,6 – 57,5), 89,4 МЕ/мл (95%ДИ: 78,6 – 100,1 МЕ/мл)

Верификация предела количественного определения при тестировании различных субтипов **ВИЧ-1: группы М (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH), группы N и группы О** была проведена с помощью панели 2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224. Полученные результаты подтвердили предел количественного определения (LOQ) набора реагентов «HIV-1-тест-Q» по отношению к субтипам **А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О** в концентрации ~ 50 копий/мл (~87,5 МЕ/мл) в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с верхним односторонним доверительным интервалом 95 %, превышающим ожидаемую частоту выявления 95 %.

4.2.4 Линейный диапазон измерения

Линейный диапазон измерения был верифицирован с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194.

По результатам исследования можно заключить, что для образцов плазмы крови К2-ЭДТА человека объемом 1000 мкл результаты анализа набором реагентов «HIV-1-тест-Q» являются линейными в диапазоне от 50 копий/мл до 10^7 копий/мл (от 88 МЕ/мл до $1,75 \cdot 10^7$ МЕ/мл) и демонстрируют максимальное отклонение от линии регрессии не выше чем $\pm 0,21 \log_{10}$.

Верификация линейного диапазона при тестировании различных субтипов (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О) ВИЧ-1 была проведена с помощью панели 2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224. Полученные результаты подтвердили линейный диапазон измерения набора реагентов «HIV-1-тест-Q» при тестировании субтипов **А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О**, линейный диапазон от 90 МЕ/мл до $1,75 \cdot 10^7$ МЕ/мл, максимальное отклонение от линии регрессии не выше, чем $- 0,28 \log_{10}$.

4.2.5 Прецизионность в условиях повторяемости

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости положительный контрольный образец, калибровочные образцы № 1 и №2, контрольный образец чувствительности были исследованы по 10 повторов.

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

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

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

4.2.6 Прецизионность в условиях воспроизводимости

Оценка воспроизводимости тест-системы проводят аналогично расчету прецизионности в условиях повторяемости, однако для тестирования используют различные партии набора реагентов, реакции ставят в разных лабораториях, разные операторы, в разные дни, на разных ПЦР-амплификаторах (Блок воспроизводимости 1, Блок воспроизводимости 2, Блок воспроизводимости 3, Блок воспроизводимости 4).

Результаты исследования показали, что коэффициент вариации в условиях воспроизводимости набора составляет не более 5%.

4.2.7 Метрологическая прослеживаемость контрольных образцов – ПКО, КО-1, КО-2, входящих в состав набора реагентов «HIV-1-тест-Q» проведена с использованием Международного стандарта **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194**. Приписанная концентрация КО-1 составляет 10^6 копий/мл ($1,75 \cdot 10^6$ МЕ/мл), КО-2 – $3 \cdot 10^3$ копий/мл (5250 МЕ/мл), ПКО – 10^7 копий/мл ($1,75 \cdot 10^7$ МЕ/мл).

На основе полученных результатов процесса калибровки и стандартизации можно заключить, что набор реагентов «HIV-1-тест-Q» обеспечивает количественные значения для стандарта Международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194, которые аналогичны ожидаемым значениям с отклонением не более $\pm 0,71 \log 10$ копий/мл (неопределенность).

4.3. Характеристики клинической эффективности

Для проведения клинических испытаний был использован **141 образец плазмы крови человека** (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции в возрасте от 4 до 63 лет.

Биологический референтный интервал концентрации РНК ВИЧ-1 в исследуемой популяции от 123 копии/мл до 97723 копии/мл (2,09 log₁₀ копий/мл до 4,99 log₁₀ копий/мл).

Для оценки **перекрестной реактивности** в клинических испытаниях испытываемым набором реагентов «HIV-1-тест-Q» были исследованы также **37 образцов**, не содержащих РНК ВИЧ-1, но с подтвержденным положительным наличием геномной НК следующих организмов и вирусов: вирусы гепатитов А, В, С и D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус герпеса 6 и 8 типов, вирус ветряной оспы, парвовирус В19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*.

Такое количество образцов выбрано с учетом требований **ГОСТ Р 51352-2013** и с учетом рекомендаций Международного руководства **CLSI EP09-A3**.

Каждый образец был протестирован в двух сериях с помощью исследуемого набора реагентов Набор реагентов для количественного определения РНК вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-1-тест-Q» по ТУ 21.20.23-041-97638376-2021, производства ООО «ТестГен» и набором сравнения «АмплиСенс® ВИЧ-Монитор-FRT», Россия (РУ№ № ФСР 2008/02552 от 22.11.2019).

Для проведения ПЦР-исследования с помощью исследуемого набора «HIV-1-тест-Q» были использованы амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий Дтпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США);
- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия);

- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США).

Выделение РНК из клинических образцов осуществлялось ФГБУ ФНКЦ ФМБА России с помощью, рекомендованных в инструкции по применению исследуемого набора «HIV-1-тест-Q», наборов для экстракции РНК:

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

4.3.1 Сравнение методов: точность.

Данные, полученные при тестировании **141 образца плазмы крови человека** (с содержанием ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта), от пациентов с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, позволяют сделать вывод о достоверном соответствии результатов количественного определения концентрации РНК ВИЧ-1 в клинических образцах, полученных с помощью **испытуемого МИ** «Набор реагентов для количественного определения РНК вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-1-тест-Q» по ТУ 21.20.23-041-97638376-2021», производства ООО «ТестГен» и **набора сравнения** «АмплиСенс® ВИЧ-Монитор-FRT», производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02552 от 22.11.2019) при проведении ПЦР-анализа с использованием **амплификаторов**:

- Амплификатор детектирующий Дтпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10228 от 03 марта 2011 г.;

- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США), регистрационное удостоверение № ФСЗ 2008/03399 от 21 июня 2016 года;

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

- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США), регистрационное удостоверение № РЗН 2019/8446 от 06 июня

2019 года.

Систематическая погрешность измерения логарифма концентрации РНК ВИЧ-1 не превышает 3 %.

Результаты статистической обработки полученных данных по сравнению методов (точность) в соответствии с рекомендациями документа CLSI EP09-A3 с использованием метода регрессии и корреляции.

	Тип образца	Ед. изм	Используемый амплификатор	Кол-во проб	Коэфф. Коррел .	Пересечение	Наклон
Набор реагентов «HIV-1-тест-Q», производства ООО «ТестГен» в сравнении с набором реагентов «АмплиСенс® ВИЧ-Монитор-FRT», производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02552 от 22.11.2019)	Плазма крови человека (с содержанием ЭДТА-K2 в качестве антикоагулянта)	log10 копии /мл	Дтпрайм	141	0,9983	0,0056	0,998
			CFX 96	141	0,9981	0,0154	0,9961
			Rotor-Gene Q	141	0,9978	-0,0094	1,0028
			Quant Studio 5	141	0,998	-0,0048	1,0006

4.3.2 Результаты определения межлотовой корреляции (плазма крови K2-ЭДТА человека).

Для определения межлотовой корреляции результатов измерений в клинических образцах в соответствии с международным руководством CLSI EP09-A3 строилась диаграмма рассеяния зависимой переменной X– концентрация РНК ВИЧ-1 с использованием испытуемого набора «HIV-1-тест-Q», производства ООО «ТестГен», **LOT: 202207-273**, и Y – концентрация РНК ВИЧ-1 с использованием испытуемого набора «HIV-1-тест-Q», производства ООО «ТестГен», **LOT: 202207-274**.

Результаты статистической обработки полученных данных по определению межлотовой корреляции в соответствии с рекомендациями документа CLSI EP09-A3 с использованием метода регрессии и корреляции.

	Тип образца	Ед. изм	Используемый амплификатор	Кол-во проб	Коэфф. Коррел.	Пересечение	Наклон
Набор реагентов «HIV-1-тест-Q», производства ООО «ТестГен» ЛОТ: 202207-273 в сравнении с ЛОТ: 202207-274	Плазма крови человека	log10 копии/мл	Дтпрайм	141	0,9912	-0,0023	0,9987
			CFX 96	141	0,9914	0,0184	0,9948
			Rotor-Gene Q	141	0,9919	-0,0095	1,0051
	(с содержанием ЭДТА-K2 в качестве антикоагулянта)		Quant Studio 5	141	0,9923	0,0303	0,9914

Коэффициент корреляции R^2 при проведении анализа на каждом из используемых амплификаторов составил более **0,99**. В соответствии с рекомендациями документа CLSI EP09-A3 с использованием метода регрессии и корреляции можно сделать вывод о высокой силе корреляционной связи концентрации ДНК HBV в клинических образцах, полученных при помощи **двух лотов испытуемого МИ** «Набор реагентов для количественного определения РНК вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) «HIV-1-тест-Q» по ТУ 21.20.23-041-97638376-2021», производства ООО «ТестГен».

4.3.3 Оценка специфичности

4.3.3.1 Оценка специфичности in vitro с помощью международного стандарта 2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224

Для оценки возможности обнаружения и количественного определения в равной степени различных субтипов (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О) использовали международный стандартный образец:

- Международный стандарт **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code:**

12/224, состоящий из 10 образцов, охватывающих наиболее распространенные субтипы ВИЧ-1: образец 1 (субтип А), образец 2 (субтип В), образец 3 (субтип С), образец 4 (субтип D), образец 5 (субтип АЕ), образец 6 (субтип F), образец 7 (субтип G), образец 8 (субтип AG-GH), образец 9 (группа N), образец 10 (группа O).

Для проведения исследования готовили рекомбинантные положительные образцы путем разведения образцов панели **NIBSC code: 12/224** в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека от индивидуальных доноров. Статус отсутствия РНК ВИЧ-1 в клинических образцах был установлен с помощью:

- Набор реагентов для одновременного выявления РНК вируса гепатита С (HCV), ДНК вируса гепатита В (HBV) и РНК вируса иммунодефицита человека (HIV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® HCV/HBV/HIV-FL» по ТУ 9398-069-01897593-2012, производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РУ № ФСР 2009/06187 от 26.02.2019.

Каждый образец был протестирован в двух дублях в каждом цикле анализа (полная процедура анализа для каждого повтора, включая экстракцию РНК до амплификации и обнаружения).

По результатам исследования подтверждена оценка специфичности набора реагентов «HIV-1-тест-Q» в равной степени к различным субтипам (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O) ВИЧ-1.

4.3.3.2 Специфичность изделия: оценка перекрестной реактивности

Для оценки перекрестной реактивности в клинических испытаниях испытываемым набором реагентов «HIV-1-тест-Q» были исследованы также **37 образцов**, не содержащих РНК ВИЧ-1, но с подтвержденным положительным наличием геномной НК следующих организмов и вирусов: вирусы гепатитов А, В, С и D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус герпеса 6 и 8 типов, вирус ветряной оспы, парвовирус В19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*.

В соответствии с инструкцией по применению исследуемого набора реагентов «HIV-1-тест-Q» проводили серию ОТ-ПЦР-РВ и оценивали прохождение реакции с исследуемыми клиническими образцами, не содержащими РНК ВИЧ-1.

Для проведения ПЦР-исследования набором реагентов «HIV-1-тест-Q» были использованы амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий Дтпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США);
- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия);
- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США).

Для всех исследуемых клинических образцов были получены отрицательные результаты, что подтверждает **отсутствие неспецифических положительных результатов** по отношению к НК следующих организмов и вирусов: вирусы гепатитов А, В, С и D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус герпеса 6 и 8 типов, вирус ветряной оспы, парвовирус В19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*.

4.3.4 Оценка предела обнаружения набора реагентов «HIV-1-тест-Q»

4.3.4.1 Подтвердить предел обнаружения с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194

В соответствии ГОСТ Р 51352-2013 и с учетом международных рекомендаций CLSI EP-17A2 предел обнаружения (LOD) определяли методом анализа разведений Международного стандарта **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194** в диапазоне предполагаемого предела обнаружения – 3, 5, 7, 10, 15, 17, 20 копий/мл (5,2, 8,7, 12,2, 17,5, 26,2, 29,7, 35 МЕ/мл).

Для проведения оценки предела обнаружения Международный стандарт **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194** разводили в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека от

индивидуальных доноров.

Каждый из образцов в 7 разведениях анализировали с помощью набора «HIV-1-тест-Q» в течение 3 разных дней в 30 повторях для расчета процента положительных результатов. Результаты определялись в соответствии с международными рекомендациями **CLSI EP-17A2** пробит-анализом.

На основании результатов исследования подтвержден заявленный производителем предел обнаружения РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с частотой выявления 95 % для амплификатора:

- Дтпрайм – 16,6 копий/мл (95%ДИ: 15,1 – 18,0 копий/мл), 29,0 МЕ/мл (95%ДИ: 27,5 – 30,4 МЕ/мл)

- CFX 96 – 17,9 копий/мл (95%ДИ: 16,4 – 19,3), 31,1 МЕ/мл (95%ДИ: 29,6 – 32,5 МЕ/мл)

- Rotor-Gene Q – 16,9 копий/мл (95%ДИ: 15,4 – 18,3), 29,5 МЕ/мл (95%ДИ: 27,1 – 30,9 МЕ/мл)

- Quant Studio 5 – 18,1 копий/мл (95%ДИ: 16,6 – 19,5), 31,7 МЕ/мл (95%ДИ: 30,27 – 33,1 МЕ/мл).

4.3.4.2 Верификация предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O)

Для верификации предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O) использовали образцы панели **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224**, содержащей образцы РНК ВИЧ-1 десяти разных субтипов (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O).

Для проведения верификации предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 образцы панели **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224** разводили в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека объемом 1000 мкл от индивидуальных доноров до концентрации LoD установленной с использованием международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194 (субтип ВИЧ-1 В) ~ 20 копий/мл (~35 МЕ/мл).

Для проведения ПЦР-исследования использовали амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий Дтпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США);
- Амплификатор Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия);
- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США).

Полученные результаты подтвердили способность набора реагентов «HIV-1-тест-Q» выявлять субтипы ВИЧ-1: А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О в концентрации ~ 20 копий/мл (~35 МЕ/мл) в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с верхним односторонним доверительным интервалом 95 %, превышающим ожидаемую частоту выявления 95 %.

4.3.5 Оценка предела количественного определения набора реагентов «HIV-1-тест-Q»

4.3.5.1 Подтвердить предел количественного определения с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194

В соответствии ГОСТ Р 51352-2013 и с учетом международных рекомендаций CLSI EP-17A2 количественного определения (LOQ) определяли методом анализа разведений Международного стандарта **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194** в диапазоне предполагаемого предела обнаружения – 10, 20, 30, 35, 40, 45, 50 копий/мл (17,5; 35; 52,5; 61,2; 70; 78,7; 87,5 МЕ/мл).

Для проведения оценки предела обнаружения Международный стандарт **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194** разводили в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека от индивидуальных доноров.

На основании результатов исследования подтвержден заявленный производителем предел количественного определения (LOQ) РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с частотой выявления 95 % для амплификатора:

- Дтпрайм – 48,1 копий/мл (95%ДИ: 41,6 – 54,5 копий/мл), 84,2 МЕ/мл (95%ДИ: 73,4 – 94,9 МЕ/мл)

- CFX 96 – 48,9 копий/мл (95%ДИ: 42,4 – 55,3), 85,6 МЕ/мл (95%ДИ: 74,8 – 96,3 МЕ/мл)

- Rotor-Gene Q – 48,3 копий/мл (95%ДИ: 41,8 – 54,7), 84,6 МЕ/мл (95%ДИ: 73,8 – 95,3 МЕ/мл)
- Quant Studio 5 – 49,8 копий/мл (95%ДИ: 43,3 – 56,2), 87,2 МЕ/мл (95%ДИ: 76,4 – 97,9 МЕ/мл).

4.3.5.2 Верификация предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О)

Для верификации предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О) использовали образцы панели **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224**, содержащей образцы РНК ВИЧ-1 десяти разных субтипов (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О).

Для проведения верификации предела обнаружения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 образцы панели **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224** разводили в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека объемом 1000 мкл от индивидуальных доноров до концентрации LoD установленной с использованием международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194 (субтип ВИЧ-1 В) ~ 20 копий/мл (~35 МЕ/мл).

Полученные результаты подтвердили способность набора реагентов «HIV-1-тест-Q» выявлять субтипы ВИЧ-1: А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа О в концентрации ~ 20 копий/мл (~35 МЕ/мл) в образцах плазмы крови К2-ЭДТА объемом 1000 мкл с верхним односторонним доверительным интервалом 95 %, превышающим ожидаемую частоту выявления 95 %.

4.3.6 Проверка линейного диапазона измерения

4.3.6.1 Проверка линейного диапазона измерения с помощью международного стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194

Линейность теста «HIV-1-тест-Q» в соответствии с ГОСТ Р 51352-2013 определяли методом тестирования серии разведений, которая включала 12 образцов панели, перекрывающих предполагаемый линейный диапазон. Высотитражные образцы панели готовили из высотитражного рекомбинантного положительного образца, образцы панели с меньшим титром

готовили путем разведения международного стандарта **WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194**, имеющий концентрацию 125900 МЕ/мл (220325 копий/мл)

Линейная панель была подготовлена таким образом, чтобы давать перекрывание величиной примерно $0,5 \log_{10}$ копий/мл между образцами: 10^7 копий/мл, $10^{6,5}$ копий/мл, 10^6 копий/мл, $10^{5,5}$ копий/мл, 10^5 копий/мл, $10^{4,5}$ копий/мл, 10^4 копий/мл, $10^{3,5}$ копий/мл, 10^3 копий/мл, $10^{2,5}$ копий/мл, 10^2 копий/мл, 50 копий/мл.

Для проведения оценки приготовленные контрольные образцы линейной панели разводили в отрицательной по содержанию РНК ВИЧ-1 плазме крови К2-ЭДТА человека от индивидуальных доноров.

На основании результатов исследования линейного диапазона можно заключить, для образцов плазмы крови К2-ЭДТА человека объемом 1000 мкл результаты анализа набором реагентов «HIV-1-тест-Q» являются линейными в диапазоне от 50 копий/мл до 10^7 копий/мл (от 88 МЕ/мл до $1,75 \cdot 10^7$ МЕ/мл) и демонстрируют максимальное отклонение от линии регрессии не выше чем $\pm 0,21 \log_{10}$.

4.3.6.2 Проверка линейного диапазона измерения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O)

Для проверки линейного диапазона измерения при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O) использовали образцы панели **2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT (Main) NIBSC code: 12/224**, содержащей образцы РНК ВИЧ-1 десяти разных субтипов (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O).

На основании результатов исследования линейного диапазона при тестировании различных субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, АЕ, F, G, AG-GH, группа N и группа O) можно заключить, для образцов плазмы крови К2-ЭДТА человека объемом 1000 мкл результаты анализа набором реагентов «HIV-1-тест-Q» являются линейными в диапазоне от 50 копий/мл до 10^7 копий/мл (от 88 МЕ/мл до $1,75 \cdot 10^7$ МЕ/мл) и демонстрируют максимальное отклонение от линии регрессии не выше чем $\pm 0,21 \log_{10}$.

4.3.7 Оценка прецизионности изделия: в условиях повторяемости и воспроизводимости

4.3.7.1 Определение прецизионности в условиях повторяемости

Оценку прецизионности в условиях повторяемости тест-системы проводили при последовательных исследованиях 3 положительных клинических образцов (низкотитражный, из середины линейного диапазона и высокотитражный) и 1 отрицательного образца.

На основании результатов исследования прецизионности в условиях повторяемости, можно заключить, что коэффициент вариации в условиях повторяемости набора реагентов «HIV-1-тест-Q» составляет не более 3%.

4.3.7.2 Определение прецизионности в условиях воспроизводимости

Оценку прецизионности в условиях воспроизводимости тест-системы проводили при последовательных исследованиях 3 положительных клинических образцов (низкотитражный, из середины линейного диапазона и высокотитражный) и 1 отрицательного образца.

На основании результатов исследования прецизионности в условиях воспроизводимости, можно заключить, что коэффициент вариации в условиях воспроизводимости набора реагентов «HIV-1-тест-Q» составляет не более 5%.

4.3.8 Оценка влияние интерферирующих веществ

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

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

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

Прочие интерферирующие вещества в указанных концентрациях интерферентов не оказывают влияния на результаты теста. Отрицательный результат в тесте «HIV-1-тест-Q» был получен для всех отрицательных по содержанию РНК ВИЧ-1 образцов, положительный результат был получен для всех положительных по содержанию РНК ВИЧ-1 образцов. Кроме того, средний $\log_{10}$ титра каждого ВИЧ-1-позитивного образца, содержащего потенциально интерферирующие вещества, находился между $-0,19 \log_{10}$ и $0,22 \log_{10}$ среднего $\log_{10}$ титра соответствующего положительного образца.

5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов

В пограничную зону риска вошли опасности:

1. Потеря функциональных свойств реагентов, входящих в набор, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях;

2. Загрязнение клинического материала ингибирующими веществами в концентрациях, превышающих допустимые;

3. Контаминация реакционных смесей и образцов исследуемой РНК содержимым из пробирки ПКО или продуктами амплификации;

4. Проведение анализа с использованием пробы РНК низкого качества (низкая концентрация и/или плохая очистка);

5. Невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации вследствие работы с набором неквалифицированного персонала;

6. Использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения набора реагентов “HIV-1-тест-Q” является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

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

Все составные части и реагенты, входящие в состав набора реагентов «HIV-1-тест-Q», относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

Реагенты, входящие в набор «HIV-1-тест-Q», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «HIV-1-тест-Q», не токсичны, поскольку готовятся путем смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

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

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

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Следовать рекомендациям, изложенным в МУ «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной

очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (МУ 287-113), МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

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

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

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

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

- не использовать набор по истечении срока годности;

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

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

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

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

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

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

Оборудование для проведения мультиплексной ПЦР:

1. Бокс биологической безопасности II и III класса защиты;
2. Вортекс;
3. Дозаторы переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
4. Холодильник от 2 °C до 8 °C с морозильной камерой не выше минус 16 °C;
5. Амплификатор² с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени по каналам, соответствующим флуорофорам FAM/Green и HEX/Yellow: CFX96 (BioRad, США), «Дтпрайм», (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

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

1. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, 200 мкл, 20 мкл и 10 мкл (например, Ахуген, США);
2. Одноразовые стерильные пробирки типа «Эппендорф» на 1,5 или 2,0 мл;
3. Тонкостенные одноразовые пробирки с оптически прозрачной крышкой (в случае детекции через крышку) или оптически прозрачными стенками (в случае детекции через стенку

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

Пробирки) для ПЦР: пробирки для ПЦР объемом 0,1 или 0,2 мл, или пробирки для ПЦР объемом 0,1 или 0,2 мл в стрипах, или планшеты для ПЦР с оптически прозрачной пленкой (например, Ахуген, США), совместимые с используемым амплификатором;

4. Халат и одноразовые перчатки без талька;

5. Емкость с дезинфицирующим раствором;

6. Штативы «рабочее место» для пробирок объемом 0,1 или 0,2 мл или для стрипованных пробирок объемом 0,1 или 0,2 мл;

7. Набор для выделения РНК из плазмы крови (см. п. 8.2 Инструкции);

8. Физиологический раствор, ТЕ-буфер или деионизованная вода (для разбавления калибраторов при выделении из объема, превышающего 100 мкл).

14. Анализируемые образцы Тип анализируемого образца

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

8.1. Процедура получения клинического материала

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

Забор материала на исследование

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

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

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

Условия транспортирования и хранения исходного клинического материала – крови:

- при температуре от +2 °С до +8 °С – не более 6 часов;
- при комнатной температуре – не более 2 часов.

Кровь не замораживать.

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

Условия транспортирования и хранения плазмы крови:

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

ВНИМАНИЕ! Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов плазмы.

Для выделения РНК использовать не менее 100 мкл плазмы.

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

Предварительная обработка материала

Подготовка не требуется.

Учет, хранение, передача и транспортирование клинического материала, подозрительного на наличие ВИЧ-1, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Утилизация клинического материала (класс В), как чрезвычайно эпидемиологически опасных отходов, осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

8.2. Процедура получения пробы РНК, выделенной из плазмы крови человека

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

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

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

К объему плазмы, предназначенной для выделения РНК, следует добавить 10 мкл ВКО из набора реагентов «HIV-1-тест-Q».

Через этап выделения с добавлением 10 мкл ВКО проходят также ОКО в объеме 100 мкл (при необходимости объем ОКО довести до требуемого с помощью стерильного физиологического раствора) и калибровочные образцы КО-1 и КО-2 в объеме, соответствующем объему анализируемого клинического материала, при этом к 100 мкл каждого калибровочного образца требуется добавить соответствующий объем физиологического раствора, или ТЕ-буфера, или деионизованной воды. Требуется произвести пересчет концентрации КО-1 и КО-2 по формулам:

для КО-1: $C = 10^6 * 100 / V$, где V – требуемый объем калибратора в мкл;

для КО-2: $C = 3 * 10^3 * 100 / V$, где V – требуемый объем калибратора в мкл.

Условия возможного хранения анализируемых образцов РНК:

- при +2 ...+8 °С не более 4 ч (рекомендуется),
- при -18... -22 °С не более недели,
- при температуре не выше -80 °С не более года.

8.3. Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «HIV-1-тест-Q» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые могут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «HIV-1-тест-Q», и, предположительно, влиять на способность набора реагентов выдавать достоверные результаты.

Интерферирующие вещества могут происходить от следующих внешних и внутренних источников:

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

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

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

Исследованные концентрации интерферирующих веществ приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Интерферирующие вещества

Интерферирующие вещества	Максимальная концентрация
Эндогенные интерферирующие вещества	
Гемоглобин	260 мкг/мл
Триглицериды	37 ммоль/л
Билирубин	210 мкмоль/л
Гепарин (антикоагулянт)	0,15 МЕ/мл
Цитрат натрия (антикоагулянт)	0,1 мМ/мл
ЭДТА-К2 (антикоагулянт)	0,5 мМ/мл
Экзогенные интерферирующие вещества	
При антикоагулянтной терапии	
Гепарин	1 МЕ/мл
Препараты, назначаемые при терапии ВИЧ-1	
Эфавиренз	0,12 мг/мл
Долутегравир	0,02 мг/мл
Ламивудин	0,06 мг/мл

Тенофовир	0,06 мг/мл
Эмтрицитабин	0,04 мг/мл
Элсультфавирин	0,004 мг/мл
Фосфазид	0,16 мг/мл
Лопинавир	0,16 мг/мл
Абакавир	0,12 мг/мл
Долутегравир	0,01 мг/мл
Зидовудин	0,12 мг/мл
Ралтегравир	0,16 мг/мл
Азитромицин	0,1 мг/мл

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

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

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

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

Ограничения по использованию анализируемого материала:

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

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

- не допускается использование образцов, загрязненных посторонним биологическим материалом.

- наличие гепарина в крови у пациентов, находящихся на антикоагулянтной терапии, может привести к получению

недостовверных результатов в ПЦР, поэтому забор крови у таких пациентов рекомендовано проводить до очередного введения препарата.

9. Подготовка компонентов набора для исследования

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

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

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

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

1. Тщательно перемешать содержимое пробирок с выделенной для анализа РНК, ОТ-ПЦР-буфером, смесью олигонуклеотидов, КО-1, КО-2, ОКО и ПКО, переворачивая каждую пробирку 10 раз или перемешивая на вортексе на низкой скорости в течение 3–5 секунд, затем осадить капли с крышек пробирок коротким центрифугированием.

2. Отобрать необходимое количество пробирок (с оптически прозрачными крышками или стенками – в зависимости от используемого типа детектирующего амплификатора) объемом 0,1 или 0,2 мл для ПЦР из расчета: количество исследуемых образцов³ + 1 х ПКО + 1 х ОКО + 3 х КО-1 + 3 х КО-2.

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

14. Проведение анализа

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

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

А) Подготовка ОТ-ПЦР

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

Общий объем реакции – 25 мкл.

ВНИМАНИЕ! Запрещено изменять объем реакции.

Для приготовления реакционной смеси на 1 реакцию необходимо:

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

Готовить реакционные пробирки необходимо в следующем порядке:

1. Промаркировать пробирки на 0,1 или 0,2 мл для ПЦР.
2. В отдельной одноразовой стерильной пробирке типа «Эппендорф» объемом 1,5 или 2,0 мл приготовить реакционную смесь: $(n+9) \times 5$ мкл ОТ-ПЦР-буфера и $(n+9) \times 5$ мкл смеси олигонуклеотидов, где n – количество исследуемых образцов.
3. В каждую пробирку для ПЦР внести по 10 мкл приготовленной реакционной смеси.
4. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 15 мкл выделенной РНК. В пробирки для ПКО и ОКО препарат РНК не вносится.
5. Внести в соответствующие 3 пробирки по 15 мкл КО-1, прошедший этап выделения.
6. Внести в соответствующие 3 пробирки по 15 мкл КО-2, прошедший этап выделения.
7. Внести в соответствующую пробирку 15 мкл ПКО.
8. Внести в соответствующую пробирку 15 мкл ОКО, прошедший через этап выделения РНК (см. п. 8.2).
9. Для сброса капель со стенок отцентрифугировать пробирки в течение 1–3 секунд на микроцентрифуге-вортексе.

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

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

1. Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в реальном времени. Рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой.

2. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора. Тип анализа: количественный со стандартами. Протокол ПЦР указан в таблице 7. При необходимости одновременной постановки с наборами реагентов «НЕРА-BCD-тест» (№ РЗН 2022/16782 от 29.03.2022), «НЕРА-В-тест-Q» (№ РЗН 2022/16949 от 18.04.2022), «НЕРА-С-тест-Q» (№ РЗН 2022/16797 от 01.04.2022), использовать протокол в таблице 8.

ВНИМАНИЕ! В случае использования амплификаторов Dtpriime и аналогичных значение экспозиции по каналу FAM должно быть не более 1000.

Таблица 7 – Протокол ОТ-ПЦР

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

Таблица 8 – Протокол ОТ-ПЦР при одновременной постановке с наборами реагентов «HEPA-BCD-тест», «HEPA-B-тест-Q», «HEPA-C-тест-Q»

Стадия	Температура, °С	Время, мин.:сек.	Каналы детекции	Всего циклов
1	52	40:00	–	–
2	95	02:00	–	–
3	95	00:05	–	5
	60	00:15	–	
	67	00:30	–	
4	95	00:05	–	45
	60	00:15	FAM/Green, HEX/Yellow	
	67	00:30	–	

3. Указать количество и идентификаторы образцов, отметить расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой.

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

5. Запустить ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала.

6. По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

11. Регистрация и интерпретация результатов

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

Рекомендации по установке пороговой линии

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

Интерпретация результатов выполняется по значениям C_t каналов FAM/Green и HEX/Yellow. Учитываются только значения C_t , полученные на стадии ПЦР с флуоресцентной детекцией (то есть соответствующие стадии 4 – см. табл. 7).

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

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

Интерпретация результатов в контрольных образцах

Для ОКО и ПКО должны быть получены следующие результаты (табл. 9).

Таблица 9 – Результаты исследования для ОКО и ПКО

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

При получении для ОКО значений, отличающихся от указанных в таблице 9, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

При получении для ПКО значений, отличающихся от указанных в таблице 9, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов. При повторном получении для ПКО значений, отличающихся от указанных в таблице 8, необходимо заменить реагенты.

Интерпретация результатов

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

На основании полученных значений C_t для калибровочных образцов и их концентраций необходимо произвести построение

калибровочной прямой. При использовании калибровочной прямой производится вычисление концентраций анализируемых образцов.

Для образцов учитываются значения $Ct \leq 35$ по каналу FAM. При получении для образцов значения $Ct > 35$ (при значении Ct у ВКО ≤ 34), результат считается сомнительным.

Эффективность ПЦР должна быть в диапазоне от 85 до 115 %, разница между значениями Ct у повторов каждого калибровочного образца, КО-1 и КО-2, должна быть не более 1,5. В противном случае необходимо заново провести анализ, начиная с этапа выделения РНК. В случае, если один из трех дублей КО-1 или КО-2 имеет резко отклоняющееся от остальных значение Ct , допускается его игнорирование при построении калибровочной прямой.

Дальнейшие принципы интерпретации результатов отражены в таблице 10.

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

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

Таблица 10 – Принцип интерпретации результатов

Каналы, соответствующие флуорофорам		Интерпретация результата
FAM/Green (HIV-1), копий/мл	HEX/Yellow (ВКО), Ct	
50 – 10 ⁷ *	не уч.	Положительный результат с указанием конкретной концентрации в копиях/мл
< 50*	не уч.	Положительный результат с указанием «менее 50 копий/мл»
> 10 ⁷ *	не уч.	Положительный результат с указанием «более 10 ⁷ копий/мл»
–	≤ 34	отрицательный результат (концентрация не указана)
–	–	невалидный результат

Обозначения: «не уч.» – результат при интерпретации не учитывается; «–» – сигнал флуоресценции отсутствует, концентрация не указана; * значения указаны при выделении из 1000 мкл плазмы

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

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

При необходимости представления результата в международных единицах (МЕ) рекомендуется воспользоваться коэффициентом: 1 копия/мл = 1,75 МЕ/мл, определенный с помощью стандарта WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard NIBSC code: 16/194.

Диагностическое значение полученного результата исследования:

Полученный результат анализа может быть использован квалифицированным специалистом (врачом), с учетом данных клинической картины и других видов исследований в совокупности, для установления диагноза ВИЧ-инфекции, выбора схемы антиретровирусной терапии, мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и/или эффективности антиретровирусной терапии, а также при постановке на диспансерный учет.

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов

Хранение

Набор реагентов «HIV-1-тест-Q» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от минус 18 до минус 22 °С в течение всего срока годности набора, допускается хранение при температуре от 2 до 8 °С не более 10 суток.

Допускается заморозка/оттаивание набора «HIV-1-тест-Q» не более 10 раз.

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

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

Транспортирование

Транспортировать набор реагентов «HIV-1-тест-Q» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

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

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

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

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

Срок годности

Срок годности набора реагентов «HIV-1-тест-Q» – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех

условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Срок годности вскрытых компонентов набора

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

Срок годности приготовленных для работы компонентов набора

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

13. Утилизация

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

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 170 СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» собираются в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (кроме желтого и красного).

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

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

Потребительская упаковка набора реагентов «HIV-1-тест-Q» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

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

14. Гарантийные обязательства, контакты

Предприятие-изготовитель гарантирует качество и безопасность набора реагентов «HIV-1-тест-Q» в течение срока годности при соблюдении требований транспортирования и хранения продукции, а также при соблюдении правил эксплуатации.

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

Общество с ограниченной ответственностью «ТестГен»
(ООО «ТестГен»),

432072, г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, дом 9, офис 13

Тел.: +7 (499) 705-03-75

www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81

E-mail: help@testgen.ru

Приложение А

Обозначение	Наименование документа
ГОСТ ISO 14971-2011	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики <i>in vitro</i> . Оценка стабильности реагентов для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Методы испытаний.
ГОСТ Р ЕН 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем(маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики <i>in vitro</i> для профессионального применения
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики <i>in vitro</i> . Оценка стабильности реагентов для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования