ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Инструкция по применению
ВИЧ-ГЕН

Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «НПО ДНК-Технология»

В.Ю. Дмитровский

«25» февраля 2021 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПФ ДНК-Технология»

С.Н. Левичев

«25» 02 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов для выявления НК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) (ВИЧ-ГЕН)

по ТУ 9398-004-46482062-2004

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО«НПО ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ»
ДМИТРОВСКИЙ В.Ю.
ПОДПИСЬ

2021 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

HIV	- Human Immunodeficiency Virus
ВИЧ	- вирус иммунодефицита человека
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ИВ	- интерферирующие вещества
НК	- нуклеиновые кислоты
ВК	- внутренний контроль
К+	- положительный контрольный образец
К-	- отрицательный контрольный образец

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 **Полное наименование изделия:** Набор реагентов для выявления НК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) (ВИЧ-ГЕН) по ТУ 9398-004-46482062-2004.

1.2 **Назначение:** Набор реагентов предназначен для выявления РНК и провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека 1-го типа в периферической крови методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

1.3 **Функциональное назначение:** диагностики *in vitro,* скрининг.

1.4 **Показания и противопоказания к проведению исследования:** Наличие симптомов ВИЧ-инфекции, скрининг носителей ВИЧ. Противопоказаний к применению нет.

1.5 **Демографические и популяционные аспекты:** Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 **Область применения:** Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

1.7 **Потенциальные пользователи:** квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор реагентов для выявления НК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) (ВИЧ-ГЕН) по ТУ 9398-004-46482062-2004, далее по тексту – набор реагентов.

2.1 Состав набора

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок/ пакетов/пластин геля	Номинальный объём/вес компонента
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (включается в набор по запросу)			
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная слегка пенящаяся жидкость	1 флакон	30 мл
Реагент для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	50 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1флакон	30 мл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	4 пробирки	по 1,25 мл
Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Комплект реагентов для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации ДНК ВИЧ			
REF R3-P609-S3/9, стрипы 0.2 ml			
ОТ-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	200 мкл
Праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	100 мкл
Обратная транскриптаза	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	50 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Полимераза ТехноТаq	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	50 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	150 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		
REF R3-P609-23/9, пробирки 0.2 ml			
ОТ-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	200 мкл
Праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	100 мкл
Обратная транскриптаза	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	50 мкл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Полимераза ТехноТаq	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	50 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 20 мкл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	150 мкл
Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза (включается в набор по запросу)			
Агарозный гель (2,3 %)	Пластина из бесцветного пластика, залитая полупрозрачным слегка опалесцирующим агарозным гелем	5 пластин	-
Смесь для электрофореза	Кристаллический порошок белого цвета	1 пакет	9,55 г

Все компоненты набора реагентов, кроме смеси для электрофореза, готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

2.2 Количество анализируемых проб

Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 96 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительного контрольного образца и отрицательного контрольного образца.

2.3 Принцип метода

Метод: обратная транскрипция с последующей амплификацией синтезированных фрагментов кДНК и провирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени; качественный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса обратной транскрипции РНК и последующей амплификации кДНК и провирусной ДНК, заключающейся в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается путем приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (следовательно, и уровень флуоресценции) возрастает пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

Для анализа продуктов ПЦР можно использовать также метод электрофореза в агарозном геле. Гель с ДНК, окрашенный бромистым этидием, просматривают в проходящем ультрафиолетовом свете, используя трансиллюминатор. Регистрацию проводят визуально, с помощью фотоаппарата или видеосистемы.

Исследование с использованием набора реагентов ВИЧ-ГЕН состоит из следующих этапов: выделение РНК и провирусной ДНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции, ПЦР-амплификация кДНК и провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека 1-го типа.

На стадии выделения РНК и провирусной ДНК в реакционную смесь добавляют внутренний контрольный образец (РНК-ВК), предназначенный для оценки эффективности всех этапов исследования.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК и провирусной ДНК, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации внутреннего контрольного образца (РНК-ВК), входит флуоресцентный краситель Hex. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
ВИЧ-1	РНК-ВК	–	–	–

Исследование с использованием набора реагентов ВИЧ-ГЕН состоит из следующих этапов: выделение РНК+провирусная ДНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции, ПЦР-амплификация кДНК и провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека 1-го типа, детекция продуктов амплификации.

2.4 Время проведения анализа (включая пробоподготовку): 5 часов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность анализа

В образцах биологического материала человека, содержащих РНК ВИЧ, детектирующий амплификатор (формат «Real-time») должен регистрировать положительный результат амплификации для специфического продукта вируса иммунодефицита человека 1-го типа и отрицательный для внутреннего контроля. При анализе результатов с использованием гель-электрофореза должна быть видна полоса оранжево-красного цвета, соответствующая фрагменту генома вируса иммунодефицита человека 1-го типа, размером 223 п.н.

В образцах биологического материала человека, не содержащих РНК ВИЧ, детектирующий амплификатор (формат «Real-time») должен регистрировать отрицательный результат амплификации для специфического продукта вируса иммунодефицита человека 1-го типа и положительный результат для внутреннего контроля. При использовании метода гель-электрофореза полоса оранжево-красного цвета, соответствующая фрагменту генома вируса иммунодефицита человека 1-го типа размером 223 п.н., должна отсутствовать, а полоса, соответствующая внутреннему контрото размером 600 п.н., должна быть отчетливо видна.

3.2 Предел обнаружения: Не более 200 копий/мл.

При проведении предварительного ультрацентрифугирования плазмы крови чувствительность анализа составляет 30–50 копий на 1,0 мл плазмы.

3.3 Интерферирующие вещества

Наличие интерферирующих веществ (ИВ) в образце биологического материала может быть причиной ингибирования ПЦР и получения недостоверных результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на чувствительность и специфичность теста, составляют: гемоглобин – 0,26 ммоль/л, триглицериды – 0,36 ммоль/л, билирубин - 684 мкмоль/л, ДНК - 1 мкг на пробирку.

3.4 Диагностическая чувствительность: 99,5%.

3.5 Диагностическая специфичность: 100%.

3.6 Выявление субтипов ВИЧ-1:

набор реагентов ВИЧ-ГЕН выявляет все субтипы группы М.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Противоэпидемический режим работы лаборатории должен быть обеспечен в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Исследуемые образцы всегда рассматриваются как потенциально-опасные. При работе следует надевать одноразовые перчатки без талька и соблюдать требования безопасности СП 1.3.2322-08.

К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

С целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб, помещений и оборудования необходимо одновременное обеспечение и соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ.

Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Выделение РНК + провирусную ДНК следует проводить в ламинарных шкафах (боксах микробиологической безопасности II класса) с включенным ламинарным потоком. Подготовку к ОТ-ПЦР с использованием набора реагентов следует проводить в ПЦР-боксах.

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

Дозаторы, используемые при работе с набором, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Каждая манипуляция после её завершения обязательно должна сопровождаться сменой наконечников для дозаторов. Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

При работе с включенным трансиллюминатором необходимо пользоваться защитным экраном или специальной защитной маской.

Запрещается снимать крышку с электрофоретической камеры, если она подключена к источнику питания, так как высокое напряжение опасно для жизни.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В случае использования для детекции результатов ПЦР метода электрофореза с целью предотвращения контаминации, этап электрофореза следует проводить в отдельной, тщательно изолированной зоне, снабженной комплектами полуавтоматических пипеток, халатами, стеклянной посудой и прочими принадлежностями.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение 30 минут.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.2322-08.

Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР (МУ 1.3.2569-09).

При возникновении контаминации в помещениях лаборатории, немедленно останавливают работы и проводят мероприятия по ликвидации контаминации. После чего проводят внутрилабораторный контроль качества дезинфекции и проведенной деконтоминации ампликонов путём исследования смывов с рабочих поверхностей оборудования и поверхностей помещений.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент комплекта	Опасный компонент	Указание на риски
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (включается в набор по запросу)		
Лизирующий раствор	**Гуанидина тиоцианат**	H302, H312, H332, H412
	Тиоглицерол	H302, H312, H315, H319, H332
	Тритон Х-100	H302, H313, H318, H411
Реагент для преципитации	**Изопропанол**	H225, H319, H336
Промывочный раствор №1		
Промывочный раствор №2	**Изопропанол**	H225, H319, H336
	Метилацетат	H225, H313, H319, H336, H370
Буфер для растворения	Нет опасных веществ	-
Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)	**Азид натрия <0,1%**	является безопасным для конечного пользователя
Комплект реагентов для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации ДНК ВИЧ		
ОТ-буфер	Нет опасных веществ	-
Праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ	Нет опасных веществ	-
Обратная транскриптаза	Нет опасных веществ	-
ПЦР-буфер	Нет опасных веществ	-
Полимераза ТехноТаq	Нет опасных веществ	-
Минеральное масло	Нет опасных веществ	-
Смесь для амплификации, запечатанная	Нет опасных веществ	-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

парафином		
Положительный контрольный образец	**Азид натрия <0,1%**	является безопасным для конечного пользователя
Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза (включается в набор по запросу)		
Смесь для электрофореза	Нет опасных веществ	-
Агарозный гель (2,3 %)	**Этидиум бромид**	H302, H330, H341
H225 – Легковоспламеняющиеся жидкость и пары; H302 – Вредно при проглатывании; H312 – Вредно при контакте с кожей; H313 – Острая токсичность (кожная); H315 – Вызывает раздражение кожи; H318 – Вызывает серьезные повреждения глаз; H319 – Вызывает раздражение глаз; H330 - Смертельно при вдыхании; H332 – Вредно при вдыхании; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение; H341 - Предполагается, что данное вещество вызывает генетические дефекты; H370 - специфическая избирательная токсичность, поражающая отдельные органы-мишени при однократном воздействии; H411 – Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиям; H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.		

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте с реагентом незамедлительно снять пропитанную им одежду, обильно промыть пораженный участок под проточной прохладной водой и при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности, контакт с организмом человека исключён.

Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;
- по истечению срока годности.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалы биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование и расходные материалы:

- бокс биологической (микробиологической) безопасности II класса;
- ПЦР-бокс;
- детектирующий амплификатор (ДТ-322, ДТлайт[1], ДТпрайм[2] и ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология» или амплификаторы iCycler iQ и iQ5 производства Bio-Rad Laboratories) для наборов в формате «Real-time»;
- центрифуга для микропробирок, с RCF не ниже 16 000 g;
- центрифуга для микропробирок, с RCF не ниже 24 000 g;
- термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия или аналогичный с прижимной крышкой, и пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз или термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 40 °С до 95 °С, и пробирки объёмом 1,5 мл с защёлкивающимися крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, например, Eppendorf Safe-Lock Tubes;;
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник с морозильной камерой;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;
- пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объём жидкости 0,5-10 мкл, 2,0-20 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;

[1] – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2.
[2] – только модели 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для аспиратора с колбой-ловушкой;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька (неопудренные), текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующее средство.
- комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используют цельную периферическую кровь человека.

6.1 Взятие образцов периферической крови

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку не менее 10 раз.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.2 Транспортирование и хранение исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

Транспортировать и хранить образцы крови до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Не допускается замораживание цельной крови!

6.3 Получение плазмы крови

6.3.1 Пробирки с кровью центрифугируйте при 800-1600 x g (соответствует 3000-4100 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

ВНИМАНИЕ! Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса центрифугирования (Приложение А). Для определения соответствия центрифуги заданным параметрам центрифугирования обратитесь к руководству по эксплуатации.

6.3.2 После центрифугирования отберите дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

Допускается хранение полученной плазмы:

- при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более трёх месяцев;
- при температуре не выше минус 70 °С не более одного года.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение РНК из плазмы крови

Примечания:

1. Перед началом работы необходимо достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка лизирующий раствор прогреть при 65 °С до полного растворения осадка. Затем перемешать лизирующий раствор переворачиванием флакона вверх дном 5-10 раз, избегая пенообразования.
2. На данном этапе используйте только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
3. При одновременном исследовании образца на наличие инфекций, вызванных РНК-содержащими (HCV и HIV) и ДНК-содержащими (HBV) вирусами, необходимо на стадии пробоподготовки внести два внутренних контроля (РНК-ВК+ДНК-ВК).
4. Для повышения чувствительности анализа необходимо провести предварительное ультрацентрифугирование плазмы крови. Для этого 1,0 мл плазмы крови пациента центрифугируют в течение одного часа при температуре от 2 °С до 8 °С при 16 500 об/мин (24 000 g или более). Затем супернатант удаляют и работают с осадком как описано ниже.

ВНИМАНИЕ! В случае использования для повышения чувствительности анализа предварительного ультрацентрифугирования плазмы крови, то далее анализ из полученного препарата НК выполняется только для выявления РНК ВИЧ!

7.1.1 Подготовьте образцы:

- образцы плазмы, хранившиеся при температуре минус 18 °С и ниже, разморозьте при комнатной температуре или при температуре от 2 °С до 8 °С, перемешайте на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте 5 мин при 16000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424). Для исследования необходимо использовать надосадочную жидкость, не затрагивая осадка (при его наличии).
- образцы плазмы, хранившиеся при температуре от 2 °С до 8 °С, а также отрицательный контрольный образец и РНК-ВК перемешайте и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.1.2 Промаркируйте необходимое количество новых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца «К–».

Например, для исследования 28 образцов необходимо промаркировать 29 пробирок (28 пробирок для исследуемых образцов и одна пробирка «К–»).

7.1.3 Внесите во все промаркированные пробирки по 10 мкл предварительно перемешанного внутреннего контрольного образца (РНК-ВК).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.1.4 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки. Закройте крышки пробирок.

Примечание - Для предотвращения контаминации следует перед внесением образцов открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего.

7.1.5 Внесите по 100 мкл предварительно перемешанной плазмы в пробирки для исследуемых образцов. В пробирку, промаркированную «К–», внесите 100 мкл отрицательного контрольного образца.

ВНИМАНИЕ! Пробирки с исследуемыми образцами и отрицательным контрольным образцом необходимо обрабатывать по единой схеме.

7.1.6 Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 с дважды и осадите капли на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.7 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 15 мин, осадите конденсат центрифугированием при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 30 с при комнатной температуре.

7.1.8 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на вортексе в течение 3–5 с дважды.

7.1.9 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 15 мин при комнатной температуре.

7.1.10 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.1.11 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1 и 3–5 раз аккуратно переверните пробирки. Необходимо переворачивать каждую пробирку индивидуально.

7.1.12 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 5 мин при комнатной температуре.

7.1.13 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

7.1.14 Добавьте к осадку 300 мкл промывочного раствора №2 и 3–5 раз аккуратно переверните пробирки. Необходимо переворачивать каждую пробирку индивидуально.

7.1.15 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 5 мин при комнатной температуре.

7.1.16 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.1.17 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.

7.1.18 Добавьте к осадку 16,5 мкл буфера для растворения. Осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.1.19 Прогрейте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин.

7.1.20 Осадите капли центрифугированием пробирок при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 30 с при комнатной температуре.

Полученный препарат РНК необходимо в течение 30 мин использовать для постановки реакции обратной транскрипции, так как препарат РНК не подлежит хранению.

ВНИМАНИЕ! В случае использования для повышения чувствительности анализа предварительного ультрацентрифугирования плазмы крови, то далее анализ из полученного препарата НК выполняется только для выявления РНК ВИЧ!

ВНИМАНИЕ! Увеличение объёма буфера для растворения приводит к пропорциональному разбавлению образца и уменьшению чувствительности анализа.

Чувствительность анализа, равная 200 копий/мл, для комплекта ВИЧ-ГЕН определена при растворении осадка в 16,5 мкл буфера для растворения.

7.2 Проведение реакции обратной транскрипции

7.2.1 Разморозьте содержимое пробирок «ОТ-буфер» и «Праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ» из комплекта реагентов для обратной транскрипции при комнатной температуре, затем встряхните пробирки на вортексе и центрифугируйте в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.

Примечание - В случае выпадения осадка в буферном растворе «ОТ-буфер» пробирку следует оставить при комнатной температуре до полного растворения осадка, периодически встряхивая на вортексе.

7.2.2 Приготовьте ОТ-смесь. Смешайте в отдельной пробирке:

- 2,0x(N+1) мкл буферного раствора «ОТ-буфер»;
- 1,0x(N+1) мкл праймеров «Праймеры ОТ–HAV+HCV+ HDV+HGV+HIV и дНТФ»;
- 0,5x(N+1) мкл обратной транскриптазы,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К–».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Например, необходимо проанализировать 28 образцов. Промаркированных пробирок – 29. Нужно приготовить смесь ОТ-буфера, праймеров и обратной транскриптазы для 30 (29+1) пробирок, т.е. 60 мкл ОТ-буфера + 30 мкл праймеров + 15 мкл обратной транскриптазы.

ВНИМАНИЕ! Обратную транскриптазу необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.2.3 Встряхните пробирку с ОТ-смесью на вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.2.4 Добавьте по 3,5 мкл ОТ-смеси во все промаркированные пробирки (включая «К–») и перемешайте пипетированием 5-7 раз.

7.2.5 Поместите пробирки в термостат и инкубируйте при 40 °С в течение 30 мин, затем прогрейте при 95 °С в течение 5 мин.

7.2.6 Осадите капли со стенок пробирок центрифугированием при 16 000 x g (соответствует 13000 об/мин на Eppendorf Centrifuge 5424) в течение 30 с при комнатной температуре.

Полученный препарат кДНК готов для проведения ПЦР.

Примечание - Допускается хранение кДНК при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более одного месяца.

7.3 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для исследуемых образцов плазмы крови, положительного контрольного образца «К+»[3] и отрицательного контрольного образца «К–».

Например, необходимо проанализировать 28 образцов. Нужно промаркировать 28 пробирок для исследуемых образцов, одну пробирку для «К–» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 30.

7.3.2 Разморозьте при комнатной температуре ПЦР-буфер из комплекта реагентов для ПЦР-амплификации.

7.3.3 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТаq в течение 3–5 с и осадите капли на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТаq необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

[3] К+ - положительный контрольный образец ДНК.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.3.4 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10х(N+1) мкл ПЦР-буфера;
- 0,5х(N+1) мкл полимеразы ТехноТаq,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К–» и «К+».

Например, необходимо проанализировать 28 образцов. Промаркированных пробирок – 30. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq для 31 (30+1) пробирки, т.е. 310 мкл ПЦР-буфера + 15,5 мкл полимеразы ТехноТаq.

7.3.5 Перемешайте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq в течение 3–5 с и осадите капли на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

Смесь можно хранить при комнатной температуре не более одного часа.

7.3.6 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл смеси ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq.

7.3.7 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

7.3.8 Встряхните пробирки с препаратом кДНК и осадите капли на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.3.9 Для предотвращения контаминации следует перед внесением кДНК открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Препараты кДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл препарата кДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов.

7.3.10 Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК и реакцию обратной транскрипции, в пробирку, промаркированную «К–». Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца, в пробирку, промаркированную «К+».

7.3.11 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.3.12 Установите все пробирки в детектирующий амплификатор.

7.3.13 Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96:

Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «HIV.ini». При последующих постановках добавьте в протокол тест «HIV», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, от-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

метьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР.

При выборе теста «HIV» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведенная в таблице 2.

Таблица 2 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	94,0	5	00	1		Цикл
2	94,0	0	10	50		Цикл
	58,0	0	25		√	
	64,0	0	15			
3	10,0	…	…	Хранение		Хранение

7.3.14 Для приборов iQ и iQ5:

Включите прибор и блок питания оптической части прибора, оставьте для прогрева на 30 минут. Запустите программное обеспечение iCycler (или Bio-Rad iQ5). При первой постановке создайте и сохраните новый протокол. При последующих постановках выберите сохраненный протокол, настройте конфигурацию плашки (файл с данными о характеристике образцов и их расположении в плашке) и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации приведенным в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 - Программа амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ5 (при использовании Persistent Well Factor)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
1	1				
		1	05:00	94,0	
2	50				
		1	00:10	94,0	
		2	00:25	58,0	Real Time
		3	00:15	64,0	
3	1				
		1	01:00	10,0	

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 4 - Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo					
1	1				
		1	00:30	80,0	
		2	05:00	94,0	
2	10				
		1	00:20	94,0	
		2	00:20	58,0	
		3	00:10	64,0	
3	2				
		1	00:20	85,0	Real Time
Программа амплификации					
4	40				
		1	00:10	94,0	
		2	00:10	58,0	
		3	00:30	58,0	Real Time
		4	00:20	64,0	
5		…	…	10,0	storage

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

8.1 Регистрация результатов амплификации с использованием детектирующего амплификатора

Регистрация сигнала проводится прибором во время амплификации.

Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.

Анализ проводится программным обеспечением.

8.2 Регистрация результатов амплификации с использованием метода гель-электрофореза

8.2.1 Подготовка пробирок с продуктами амплификации

Открыть крышки пробирок с амплификационными смесями и проколоть в парафине отверстие с помощью остро заточенной стальной проволоки диаметром 2 мм. После прокалывания каждой пробирки проволоку промыть в емкости с водопроводной водой.

8.2.2 Приготовление буфера для электрофореза.

Содержимое пакета со смесью для электрофореза перенести в мерную колбу вместимостью 1 л, добавить приблизительно 700 мл дистиллированной воды, переме-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

шать до полного растворения порошка и довести дистиллированной водой до метки 1 литр.

Примечание – Раствор буфера для электрофореза можно хранить не более 7 дней при температуре от 18 °С до 25 °С или не более одного месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

8.2.3 Проведение электрофореза

8.2.3.1 Заполнить камеру для горизонтального электрофореза буфером для электрофореза.

8.2.3.2 Поместить пластину с агарозным гелем (2,3 %) в камеру для горизонтального электрофореза.

Примечание – Буфер для электрофореза должен покрывать пластину с гелем слоем приблизительно 5 мм.

8.2.3.3 Осторожно внести 7 мкл продуктов амплификации из пробирок, маркированных «К-» и «К+», в соответствующие лунки и агарозного геля под буфер.

8.2.3.4 Установить крышку на камеру для горизонтального электрофореза и подключить источник постоянного тока. Электрофорез проводить при напряжении 20 вольт/см в течение 10 мин (при ширине камеры 10 см напряжение, устанавливаемое в источнике постоянного тока, должно быть приблизительно равно 200 в).

8.2.3.5 После окончания электрофореза отключить источник постоянного тока, снять крышку с камеры горизонтального электрофореза.

8.2.3.6 Вынуть пластину с агарозным гелем из камеры для электрофореза, дать стечь жидкости с геля, снять гель с пластины, подцепив его с края скальпелем, и поместить на экран трансиллюминатора.

ВНИМАНИЕ! С агарозным гелем работать только в резиновых перчатках.

8.2.3.7 Надеть защитную маску или установить защитный экран, включить трансиллюминатор и проанализировать полученные результаты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1 Учёт результатов реакции с помощью детектирующего амплификатора

Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 5.

Таблица 5 - Интерпретация результатов ПЦР

Результат по каналу детекции Fam (искомая РНК)	**Результат по каналу детекции Hex (внутренний контроль)[4]**	**Интерпретация[5]**
Анализируемые образцы		
Ср/Ct указан	Не учитывается	Обнаружена РНК ВИЧ («+»)
Ср не указан (для iQ N/A)	Ср (для iQ5 Ct) 29-34	Не обнаружена РНК ВИЧ («-»)
Ср не указан (для iQ N/A)	Ср не указан (для iQ N/A)	Недостоверный результат («нд»)
Положительный контрольный образец		
Ср/Ct указан	Не учитывается	Положительный результат («+»)
Отрицательный контрольный образец		
Ср не указан (для iQ N/A)	Ср (для iQ5 Ct) 29-34	Отрицательный результат («-»)

9.1.1 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате РНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае необходимо повторно провести ПЦР, либо выделение РНК и постановку обратной транскрипции и ПЦР для этого образца, либо повторное взятие клинического материала у пациента (выполняется последовательно).

9.1.2 При получении недостоверного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

9.1.3 При получении положительного результата на наличие РНК ВИЧ в отрицательном контрольном образце, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

[4] - если значение Ср (Ct) по каналу Hex больше указанного, результат недостоверный!

[5] - в скобках представлен результат в графе «Качественный анализ» для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.2 Учет реакции амплификации с помощью гель-электрофореза

9.2.1 В положительных образцах должны быть видны полосы оранжево-красного цвета, соответствующие фрагменту генома вируса иммунодефицита человека 1-го типа размером 223 п.н. Наличие или отсутствие полосы ДНК внутреннего контроля в этом случае в учет не принимают.

9.2.2 В отрицательных образцах, в том числе в отрицательном контроле, светящиеся полосы оранжево-красного цвета, соответствующие фрагменту генома вируса иммунодефицита человека 1-го типа размером 223 п.н., должны отсутствовать, а полоса внутреннего контроля размером 600 п.н. должна быть отчетливо видна.

9.2.3 В случае наличия полосы ДНК, соответствующей фрагменту генома вируса иммунодефицита человека 1-го типа размером 223 п.н., в отрицательном контроле, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора, в течение всего срока годности или в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

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

10.2 Хранение

10.2.1 Пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, ПЦР-буфер, минеральное масло, положительный контрольный образец, лизирующий раствор, реагент для преципитации, промывочный раствор №1, промывочный раствор №2, буфер для растворения, внутренний контрольный образец (РНК-ВК), смесь для электрофореза, агарозный гель (2,3 %) следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10.2.2 Смесь для амплификации, запечатанную парафином и агарозный гель (2,3 %) следует хранить в защищённом от света месте

10.2.3 ОТ-буфер, праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ, обратную транскриптазу, полимеразу ТехноТаq следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности.

10.2.4 Допускается хранение ПЦР-буфера и минерального масла при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора, а также их многократное замораживание-оттаивание.

10.2.5 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению.

10.3.2 После вскрытия упаковки компоненты набора следует хранить при следующих условиях:

- Пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, ПЦР-буфер, минеральное масло, положительный контрольный образец, лизирующий раствор, реагент для преципитации, промывочный раствор №1, промывочный раствор №2, буфер для растворения, внутренний контрольный образец (РНК-ВК), смесь для электрофореза, агарозный гель (2,3 %) следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора;
- Смесь для амплификации, запечатанную парафином и агарозный гель (2,3 %) следует хранить в защищённом от света месте;
- ОТ-буфер, праймеры ОТ-HAV+HCV+HDV+HGV+HIV и дНТФ, обратную транскриптазу, полимеразу ТехноТаq следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности;
- Допускается хранение ПЦР-буфера и минерального масла при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов, а также их многократное замораживание-оттаивание

10.3.3 Наборы с истекшим сроком годности применению не подлежат.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

11.2 Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе, в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

11.3 Упаковка набора реагентов (коробки, грипперы) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

ВНИМАНИЕ! В случае вскрытия упаковки набора в боксе она относится к отходам класса Б и подлежит утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

12.2 Срок годности набора – 9 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

13.1 Набор реагентов предназначен для одноразового использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон	REF	Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не допускается воздействие солнечного света
LOT	Серия набора		Содержит этидиум бромид
	Дата изготовления		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-95 Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ Р 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения.

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

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

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

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документа, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения, и EN ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное объединение ДНК-Технология», ООО «НПО ДНК-Технология» (Общество с ограниченной ответственностью), Россия.

адрес: 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Место производства:

ООО «НПО ДНК-Технология»: Россия, 142281, Московская обл. г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Рекламации по вопросам качества набора реагентов ВИЧ-ГЕН следует направлять по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское ш., д.125Ж, корпус 6, этаж 5, комн.14, тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

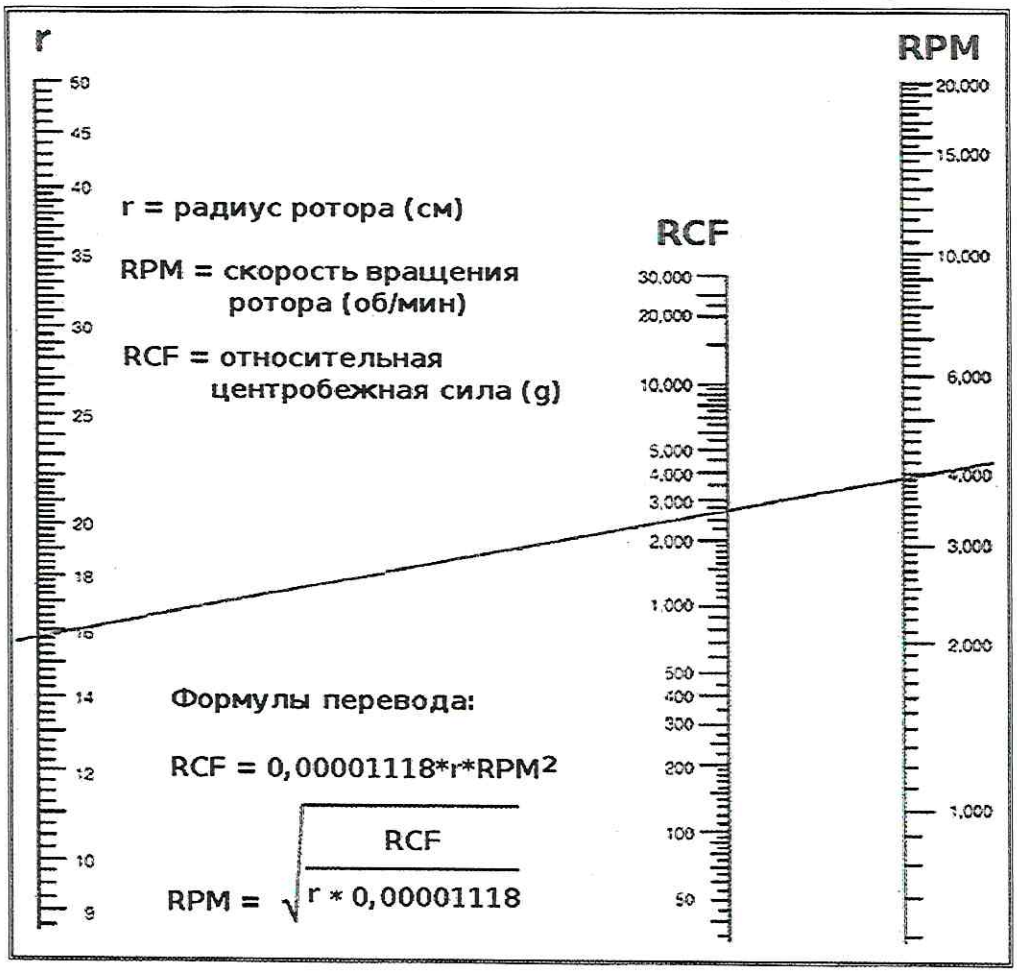
E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приложение А

(справочное)

Номограмма и формула перевода относительного ускорения центрифуги (RCF) в скорость вращения (RPM) в зависимости от диаметра ротора



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru