

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біомедичної інженерії
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

«На правах рукопису»
УДК 615.275.4 + 615.46.014.45

До захисту допущено:
Завідувач кафедри
_____ Олександр БЕСАРАБ
«__» _____ 2025 р.

**Магістерська дисертація
на здобуття ступеня магістра
за освітньо-професійною програмою «Регенеративна та
біофармацевтична інженерія»
зі спеціальності 163 «Біомедична інженерія»
на тему: «Розробка технічного файлу на мікрофлюїдний чіп для
ідентифікації генів набутої резистентності»**

Виконав: студент II курсу, групи ЗФ-41мп
Коваленко Артем Володимирович

Науковий керівник: к.т.н., доцент каф.
трансляційної медичної біоінженерії
Луценко Тетяна Миколаївна

Рецензент: д.т.н., доцента, завідувач
кафедри біоенергетики, біоінформатики та
екобіотехнології
Голуб Наталія Борисівна

Засвідчую, що у цій магістерській
дисертації немає запозичень з праць
інших авторів без відповідних
посилань.
Студента _____

Київ – 2025 року

**Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біомедичної інженерії
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)
Спеціальність: 163 – Біомедична інженерія
Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри трансляційної
медичної біоінженерії
_____ Олександр БЕСАРАБ
« ____ » _____ 2025 р.

**ЗАВДАННЯ
на магістерську дисертацію студенту
Коваленко Артема Володимировича**

1. Тема дисертації «Розробка технічного файлу на мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності», науковий керівник дисертації Луценко Тетяна Миколаївна затверджені наказом по університету від «03» листопада 2025 р. № 4751-с
2. Термін подання дисертації здобувачем «15» грудня 2025 р.
3. Об'єкт дослідження: Розробка технологічного файлу для виробництва мікрофлюїдного чіпа для ідентифікації генів набутої резистентності
4. Предмет дослідження: Виробництво та експлуатація в Україні
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: огляд літератури на тему використання мікрофлюїдних чіпів та пошук необхідних компонентів для їх створення, нормативних документів; розробка технологічної схеми виробництва, креслення мікрофлюїдного чіпа, проведення контролю якості на основних етапах виробництва; оцінка ризиків технології виробництва.
6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: технологічна схема, креслення чіпу

7. Орієнтовний перелік публікацій: "A Lab-on-a-Chip Device Integrated DNA Extraction and Solid Phase PCR Array for the Genotyping of High-Risk HPV in Clinical Samples" Micromachines 10, no. 8
8. Консультанти розділів дисертації: не передбачено робочим навчальним планом.
9. Дата видачі завдання: «02» листопада 2025 р.

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури основних типів матеріалів що використовуються при виробництві мікрофлюїдних чіпів	02.10.25-10.10.25	
2	Опис всіх етапів технології виготовлення мікрофлюїдного чіпу	11.10.25-06.11.25	
3	Створення технологічної схеми виробництва	07.11.25-10.11.25	
4	Розробка технологічного креслення мікрофлюїдного чіпу	11.11.25-17.11.25	
5	Виведення клінічних даних	18.11.25-19.11.25	
6	Контроль якості на основних етапах виробництва	20.11.25-22.11.25	
7	Проведення оцінки ризиків	23.11.25-25.11.25	
8	Розробка стартап-проєкту	26.11.25-03.12.25	
9	Аналіз результатів роботи	04.12.25-05.12.25	
10	Оформлення магістерської дисертації	06.12.25-08.12.25	
11	Підготовка презентації для захисту	09.12.25-10.12.25	
12	Підготовка до захисту	21.12.25-22.12.25	
13	Захист магістерської дисертації	22.12.25	

Студент

_____ (підпис)

Науковий керівник дисертації

_____ (підпис)

Артем КОВАЛЕНКО

(ім'я, прізвище)

Тетяна ЛУЦЕНКО

(ім'я, прізвище)

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	9
I. ВСТУП	10
1.1 Регуляторна інформація.....	14
1.2 Короткий опис виробу	15
II. СПИСОК ОБОВ'ЯЗКОВИХ ВИМОГ	18
2.1. Регуляторні вимоги до медичних діагностичних виробів <i>in vitro</i>	18
2.2. Структура технічного файлу відповідно до вимог ISO 13485.....	22
2.3. Європейські директиви та регламенти щодо медичних виробів для діагностики <i>in vitro</i>	26
2.4. Особливості технічної документації для мікрофлюїдних систем.....	31
III. АНАЛІЗ РИЗИКІВ	39
3.1. Формулювання передбаченого застосування та визначення характеристик безпеки.....	40
3.2. Ідентифікація небезпек та небезпечних ситуацій.....	40
3.3. Визначення та оцінювання ризиків	43
3.4. Матриця оцінки ризиків	43
3.5. Управління ризиками – заходи щодо їх зниження.....	45
3.6. Оцінка залишкових ризиків	47
3.7. Моніторинг та перегляд інформації про ризики	48
IV. КРЕСЛЕННЯ, ДИЗАЙН, СПЕЦИФІКАЦІЇ ЯКОСТІ.....	50
4.1. Загальний опис медичного виробу	50
4.2. Конструкція та технічні характеристики	50
4.3. Матеріали та їх характеристики	51
4.4. Реагенти та біохімічні компоненти	52
4.5. Функціональні та аналітичні характеристики.....	53
4.6. Специфікації на компоненти та матеріали	54
4.7. Специфікації на готовий виріб.....	54
4.8. Система контролю якості	56
4.9. Комплектність та система використання	56
4.10. Економічна модель та стартап	57
V. ХІМІЧНІ, ФІЗИЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ТЕСТИ.....	60
5.1. Обґрунтування необхідності проведення випробувань	60

5.2. Тестування <i>in vitro</i> – доклінічні дослідження	60
5.4. Біологічна оцінка.....	63
5.5. Тести біостабільності	66
5.6. Біологічна безпека, матеріали тваринного походження.....	67
5.7. Комбінація лікарського засобу та медичного виробу	68
5.8. Комбінація похідних крові, тканин людини та медичного виробу	69
5.9. Підсумкова оцінка результатів випробувань	70
VI. КЛІНІЧНІ ДАНІ	72
6.1. Літературний огляд сучасного стану діагностики антибіотикорезистентності.....	72
6.1.1. Традиційні методи визначення лікарської чутливості	72
6.1.2. Молекулярно-генетичні методи діагностики	73
6.1.3. Мікрофлюїдні технології у діагностиці інфекційних захворювань	74
6.2. Оцінка клінічних ризиків, пов'язаних із застосуванням виробу	76
6.3. План клінічних випробувань.....	78
6.3.1. Цілі дослідження.....	78
6.3.2. Дизайн дослідження	78
6.3.3. Учасники дослідження	79
6.3.4. Розмір вибірки та статистичний аналіз.....	80
6.3.5. Процедури дослідження.....	81
6.3.6. Оцінка безпеки	81
6.3.7. Етичні аспекти.....	82
6.3.8. Моніторинг та звітність.....	83
6.4. Висновки щодо клінічних даних	83
VII. МАРКУВАННЯ ТА ІНСТРУКЦІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯ	85
7.1. Загальні положення.....	85
7.2. Етикетка медичного виробу	85
7.3. Таблиця використаних символів.....	86
7.4. Зовнішня упаковка (вторинна).....	87
7.5. Інструкція для використання	87
7.5.1. Загальна інформація	87
7.5.2. Опис виробу та принцип роботи	88
7.5.3. Склад комплекту	88

7.5.4. Необхідне додаткове обладнання	88
7.5.5. Тип зразків та підготовка	89
7.5.6. Процедура використання.....	89
7.5.7. Інтерпретація результатів.....	90
7.5.8. Обмеження методу	91
7.5.9. Заходи безпеки та застереження.....	92
7.5.10. Умови зберігання та транспортування.....	93
7.5.11. Технічне обслуговування базової станції	93
7.5.12. Дії у випадку несправності	94
7.5.13. Повідомлення про інциденти.....	94
7.5.14. Додаткова інформація.....	95
7.6. Маркування для поєднання з іншими медичними виробами.....	95
7.7. Застосування символів відповідно до стандартів	96
7.8. Заключні положення	96
VIII. ВИРОБНИЦТВО	98
8.1. Загальний опис виробничого процесу	98
8.2. Технологічна схема виробництва	98
8.3. Контроль в процесі виробництва.....	106
8.4. Запобіжні заходи для безперервного процесу.....	106
8.5. Умови виробничих приміщень	107
8.6. Документація виробництва	108
8.7. Висновки	108
IX. КВАЛІФІКАЦІЯ УПАКОВКИ І СТРОК ПРИДАТНОСТІ.....	109
9.1. Загальні положення.....	109
9.2. Опис системи упаковки	109
9.2.1. Первинна упаковка (стерильний бар'єр).....	109
9.2.2. Вторинна упаковка (захисна).....	110
9.3. Властивості матеріалів упаковки.....	111
9.3.1. Бар'єрні властивості.....	111
9.3.2. Механічні властивості	112
9.3.3. Біосумісність та хімічна інертність.....	112
9.4. Валідація упаковки.....	113

9.4.1. Валідація процесу термозварювання	113
9.4.2. Тестування цілісності упаковки	114
9.4.3. Мікробіологічні випробування	115
9.5. Дослідження стабільності та визначення терміну придатності	116
9.5.1. Програма досліджень стабільності	116
9.5.2. Параметри контролю стабільності	117
9.5.3. Результати досліджень стабільності	119
9.5.4. Обґрунтування терміну придатності	121
9.6. Випробування на транспортування	122
9.7. Хімічна сумісність матеріалів	123
9.8. Екологічні аспекти упаковки	124
X. СТЕРИЛІЗАЦІЯ	127
10.1. Загальні положення	127
10.2. Обґрунтування вибору методу стерилізації	127
10.3. Гамма-опромінення (основний метод)	129
10.3.1. Опис процесу	129
10.3.2. Валідація процесу гамма-стерилізації	130
10.3.3. Рутинний контроль процесу	132
10.3.4. Вплив гамма-опромінення на матеріали виробу	133
10.4. Етиленоксид (альтернативний метод)	134
10.4.1. Опис процесу	134
10.4.2. Валідація процесу EtO-стерилізації	135
10.4.3. Контроль залишкових речовин	135
10.5. Мікробіологічний контроль стерильності	136
10.5.1. Тест стерильності	136
10.5.2. Біонавантаження (контроль до стерилізації)	137
10.6. Періодична ревалідація	137
10.7. Маркування стерильних виробів	138
10.8. Висновки	138
XI. ФУНКЦІЯ ВИМІРЮВАННЯ	140
11.1. Принцип виявлення	140
11.2. Цільові гени	140

11.3. Аналітичні характеристики.....	140
11.3.1. Аналітична чутливість (LOD).....	140
11.3.2. Специфічність.....	141
11.3.3. Діагностична точність (клінічна валідація).....	141
11.3.4. Прецизійність	141
11.4. Контроль якості	141
11.5. Обмеження методу	142
11.6. Висновки	142
XII. КОМБІНАЦІЇ З ІНШИМИ МЕДИЧНИМИ ВИРОБАМИ.....	143
12.1. Загальні положення.....	143
12.2. Обов'язкове обладнання	143
12.2.1. Зчитувальний пристрій (аналізатор)	143
12.2.2. Допоміжне обладнання.....	143
12.3. Випробування сумісності	143
12.4. Відповідальність виробника	144
ДЕКЛАРАЦІЯ ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ МЕДИЧНИХ ВИРОБІВ № 13	145
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	146

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

МБТ — *Mycobacterium tuberculosis*

МДР-ТБ (MDR-TB) — Мультирезистентний туберкульоз

ШЛР-ТБ (XDR-TB) — Широка лікарська резистентність туберкульозу

ПЛР (PCR) — Полімеразна ланцюгова реакція

IVD — Медичні вироби для *in vitro* діагностики

ISO — Міжнародна організація зі стандартизації

IVDR — Регламент (ЄС) 2017/746 про медичні вироби для діагностики *in vitro*

LOD — Межа виявлення (Limit of Detection)

SAL — Рівень гарантії стерильності (Sterility Assurance Level)

CE — Європейське маркування відповідності

GMP — Належна виробнича практика (Good Manufacturing Practice)

FAM, HEX, Texas Red, Cy5 — Канали флуоресцентного детектування

rhoB, katG, inhA, embB — Гени резистентності *M. tuberculosis*

ISO 13485 — Стандарт якості для медичних виробів

ISO 14971 — Управління ризиками для медичних виробів

ISO 10993 — Біологічна оцінка медичних виробів

EUDAMED — Європейська база даних медичних виробів

МОЗ — Міністерство охорони здоров'я України

КМУ — Кабінет Міністрів України

I. ВСТУП

Актуальність

Розвиток молекулярної діагностики та біотехнологій вимагає постійного вдосконалення методів для швидкого та точного виявлення інфекційних захворювань, зокрема туберкульозу. Туберкульоз залишається однією з найбільш небезпечних інфекційних хвороб у світі, яка щорічно вражає понад 10 мільйонів людей та призводить до понад 1.3 мільйона смертей [18]. Особливо загрозовою є проблема мультирезистентного туберкульозу (MDR-TB), при якому мікобактерії виявляють стійкість до двох найефективніших протитуберкульозних препаратів – рифампіцину та ізоніазиду. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у 2022 році було зареєстровано близько 410 000 випадків MDR-TB, що становить серйозну загрозу для глобального здоров'я [18, 21].

Україна входить до переліку країн з високим тягарем туберкульозу та мультирезистентного туберкульозу. Своєчасне виявлення резистентності до протитуберкульозних препаратів є критично важливим для призначення адекватної схеми лікування та запобігання розвитку широкої лікарської резистентності (XDR-TB). Однак традиційні культуральні методи тестування лікарської чутливості потребують 4-8 тижнів для отримання результатів, що призводить до затримки початку ефективної терапії, погіршення прогнозу захворювання та підвищення ризику трансмісії резистентних штамів у популяції [21].

Для швидкого визначення профілю лікарської резистентності та ідентифікації генетичних мутацій, що обумовлюють стійкість мікобактерій до антибіотиків, виникає необхідність у створенні інноваційних діагностичних систем на основі молекулярно-генетичних методів. Одним із перспективних напрямків є використання мікрофлюїдних технологій для створення інтегрованих лабораторій на чіпі ("lab-on-a-chip"). Ця технологія дозволяє

мініатюризувати і автоматизувати повний цикл молекулярного аналізу – від екстракції ДНК до детекції специфічних генів резистентності, що значно скорочує час аналізу та знижує вартість діагностики [15, 16, 24].

Розробка мікрофлюїдного чіпу для ідентифікації генів набутої резистентності *Mycobacterium tuberculosis* методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (real-time PCR) є важливим кроком у напрямку створення ефективних діагностичних інструментів для клінічних лабораторій. Технологія мікрофлюїдики дає змогу створювати компактні, швидкі та точні діагностичні пристрої, що значно підвищує доступність якісної діагностики туберкульозу, особливо в умовах обмежених ресурсів [15, 24].

Існуючі методи молекулярної діагностики туберкульозу, такі як Xpert MTB/RIF, забезпечують швидке виявлення *M. tuberculosis* та резистентності до рифампіцину, проте мають обмеження щодо кількості генів, які можуть бути одночасно проаналізовані, та високу вартість [18]. Мікрофлюїдний чіп з можливістю мультиплексного виявлення чотирьох генів резистентності (*rpoB*, *katG*, *inhA*, *embB*) може значно розширити діагностичні можливості та забезпечити комплексну оцінку профілю лікарської чутливості *M. tuberculosis* [21, 24].

Мета роботи

Метою даної роботи є розробка технічного файлу для мікрофлюїдного чіпу для ідентифікації генів набутої резистентності збудника захворювання туберкульозу мікобактерії *Mycobacterium tuberculosis*, призначеного для використання в клінічних лабораторіях мікробіологічної діагностики та протитуберкульозних диспансерах.

Завдання

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Розробити технологію виробництва мікрофлюїдного чіпу з інтегрованими мікроканалами для екстракції ДНК, ампліфікації та детекції цільових генів резистентності.

2. Визначити основні технічні характеристики чіпу, такі як геометричні параметри мікроканалів, об'єми реакційних камер, матеріали конструкції, оптичні властивості полімеру.
3. Розробити план проведення валідації аналітичних характеристик методу діагностики: визначення межі виявлення (LOD), специфічності, діагностичної чутливості, специфічності та прецизійності.
4. Провести оцінювання біосумісності матеріалів чіпу (полікарбонат, боросилікатне скло) згідно з вимогами ISO 10993 "Біологічна оцінка медичних виробів".
5. Розробити та валідувати процес стерилізації чіпу (гамма-опромінення або етиленоксид) для забезпечення мікробіологічної чистоти виробу.
6. Провести дослідження стабільності біохімічних реагентів (ферментів, праймерів, буферів) у складі чіпу та визначити термін придатності виробу.
7. Підготувати повну технічну документацію, що включає опис конструкції, виробничий процес, контроль якості, управління ризиками згідно з ISO 14971, клінічні дані.
8. Розробити інструкцію для використання мікрофлюїдного чіпу медичним персоналом клінічних лабораторій з детальним описом процедури проведення аналізу та інтерпретації результатів.
9. Розробити проєкт Декларації про відповідність ЄС згідно з вимогами Регламенту (ЄС) 2017/746 про медичні вироби для діагностики *in vitro*.
10. Обґрунтувати класифікацію виробу та вибір схеми оцінки відповідності за участю нотифікованого органу.

Об'єкт та предмет дослідження

Об'єктом дослідження є процес молекулярно-генетичної діагностики резистентності *Mycobacterium tuberculosis* до протитуберкульозних препаратів.

Предметом дослідження є мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності *M. tuberculosis* (*rpoB*, *katG*, *inhA*, *embB*) методом мультиплексної ПЛР у реальному часі, його конструкція, технологія виробництва, аналітичні характеристики та регуляторна документація.

Опис технології та виробу

Мікрофлюїдний чіп являє собою мініатюрну полімерну пластину розміром $75 \times 50 \times 5$ мм з інтегрованими мікроканалами діаметром 200-500 мкм та реакційними камерами об'ємом 50-200 мкл. Чіп виготовляється з оптично прозорого полікарбонату методом мікрофабрикації (літографія або мікрофрезерування) з подальшим складанням багат шарової структури та герметизацією [15, 16, 24].

Принцип роботи чіпу базується на інтеграції трьох ключових етапів молекулярного аналізу на одній платформі: (1) екстракція геномної ДНК *M. tuberculosis* з клінічного зразка (мокротиння) за допомогою магнітних мікрочастинок у мікрофлюїдних каналах; (2) специфічна ампліфікація цільових генів резистентності (*rpoB*, *katG*, *inhA*, *embB*) методом мультиплексної ПЛР з використанням флуоресцентно мічених TaqMan-зондів; (3) детекція флуоресцентного сигналу у реальному часі у чотирьох спектральних каналах (FAM, HEX, Texas Red, Cy5) за допомогою зовнішнього оптичного зчитувального пристрою [15, 21, 24].

Час аналізу від внесення клінічного зразка до отримання результату становить 3-4 години, що є значним покращенням порівняно з традиційними культуральними методами (4-8 тижнів). Чіп забезпечує якісне визначення наявності або відсутності мутацій у кожному з чотирьох цільових генів, що дозволяє клініцистам швидко призначити адекватну схему протитуберкульозної терапії [18, 21].

Виріб постачається у стерильному стані (стерилізація гамма-опроміненням, рівень гарантії стерильності SAL 10^{-6}) з попередньо завантаженими біохімічними реагентами (лізуючі буфери, ПЛР-суміші) у

герметичній упаковці. Термін придатності становить 18 місяців при зберіганні при температурі +4 до +8°C [24, 28].

1. 1 Регуляторна інформація

Згідно з класифікаційними правилами Регламенту (ЄС) 2017/746 про медичні вироби для діагностики *in vitro* (IVDR), Додаток VIII, Правило 3(d), мікрофлюїдний чіп відноситься до медичних виробів класу II [11]. Обґрунтуванням класифікації є те, що виріб призначений для виявлення *Mycobacterium tuberculosis* – збудника інфекційного захворювання, що становить серйозну небезпеку для здоров'я людини з можливими тяжкими наслідками, включаючи летальний результат. Крім того, виріб визначає резистентність до протитуберкульозних препаратів першої лінії, що має критичне значення для вибору схеми лікування та прогнозу захворювання пацієнтів з мультирезистентним туберкульозом [18, 21].

Для виробів класу II згідно з IVDR застосовується процедура оцінки відповідності за участю нотифікованого органу (Додаток IX Регламенту) [11]. Вона передбачає складання повної технічної документації (технічного файлу) відповідно до Додатка II IVDR, впровадження системи управління якістю відповідно до ISO 13485:2016, оцінку технічної документації та аудит системи якості з боку нотифікованого органу, отримання сертифіката відповідності ЄС терміном на 5 років, складання декларації про відповідність ЄС, реєстрацію виробу в європейській базі даних EUDAMED та нанесення маркування CE з ідентифікаційним номером нотифікованого органу [2, 11]. Наразі в Україні IVDR офіційно ще не набрав чинності, однак виробникам, які планують вихід на європейський ринок, необхідно повною мірою дотримуватись вимог цього Регламенту при розробці технічної документації та сертифікації виробу. Для обігу в Україні чинними залишаються Постанова КМУ від 02.10.2013 № 753 та Наказ МОЗ України від 02.04.2014 № 239, які регламентують процедуру державної реєстрації та оцінки відповідності медичних виробів [9, 12]. Для введення виробу в обіг на території України виробник дотримується вимог Постанови КМУ від 02.10.2013 № 753 "Про затвердження технічного

регламенту щодо медичних виробів" [9] та Наказу МОЗ України від 02.04.2014 № 239 "Про затвердження Порядку державної реєстрації медичних виробів" [12], що включає отримання сертифікату відповідності та декларації відповідності.

1.2 Короткий опис виробу

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності *Mycobacterium tuberculosis* розроблений для клінічних лабораторій мікробіологічної діагностики з метою швидкого виявлення профілю лікарської резистентності мікобактерій туберкульозу. Виріб використовується для молекулярно-генетичного аналізу клінічних зразків (мокротиння, бронхоальвеолярний лаваж) методом мультиплексної ПЛР у реальному часі, що дозволяє протягом 3-4 годин визначити наявність мутацій у генах *rpoB*, *katG*, *inhA* та *embB*, асоційованих з резистентністю до рифампіцину, ізоніазиду та етамбутолу [18, 21, 24].

Своєчасне виявлення мультирезистентного туберкульозу (MDR-TB) є критично важливим для призначення адекватної схеми протитуберкульозної терапії та запобігання розвитку широкої лікарської резистентності (XDR-TB). Затримка у визначенні профілю резистентності внаслідок тривалості традиційних культуральних методів (4-8 тижнів) призводить до неефективного лікування, прогресування захворювання, підвищення смертності та трансмісії резистентних штамів у популяції. Мікрофлюїдний чіп вирішує цю проблему, забезпечуючи швидку молекулярну діагностику, що дозволяє клініцистам своєчасно коригувати терапію та покращити клінічні результати для пацієнтів [18, 21].

Наукова новизна роботи

Наукова новизна роботи полягає в розробці комплексного технічного файлу для інноваційного мікрофлюїдного діагностичного пристрою, що інтегрує повний цикл молекулярно-генетичного аналізу резистентності *M. tuberculosis* на одній платформі розміром "лабораторія на чіпі". Запропонована конструкція мікрофлюїдного чіпу з багатошаровою архітектурою дозволяє

реалізувати мультиплексне виявлення чотирьох генів резистентності (*groB*, *katG*, *inhA*, *embB*) одночасно, що забезпечує комплексну оцінку профілю лікарської чутливості *M. tuberculosis* до рифампіцину, ізоніазиду та етамбутолу в межах одного аналізу [15, 21, 24].

Вперше розроблено повну регуляторну документацію для мікрофлюїдного чіпу для діагностики туберкульозу згідно з вимогами Регламенту (ЄС) 2017/746 про медичні вироби для діагностики *in vitro* (IVDR), включаючи класифікацію виробу (клас II), обґрунтування схеми оцінки відповідності, управління ризиками згідно з ISO 14971, біологічну оцінку матеріалів згідно з ISO 10993, валідацію аналітичних характеристик згідно з ISO 20395 та клінічну валідацію на репрезентативній популяції пацієнтів [11, 27].

Науковий внесок роботи також полягає в систематизації вимог міжнародних стандартів та регуляторних документів (ISO 13485, ISO 14971, ISO 10993, ISO 11137, ISO 11607, ISO 20395, IVDR) для медичних виробів для діагностики *in vitro*, які згідно з чинним законодавством класифікуються за належністю до списків А, В або як вироби поза списками. Запропонована систематизація може бути використана як методична база для розробки подібних діагностичних пристроїв у майбутньому [2, 11, 27].

Практичне значення роботи

Практичне значення роботи полягає у можливості впровадження розробленого мікрофлюїдного чіпу в клінічну практику лабораторій мікробіологічної діагностики та протитуберкульозних диспансерів для швидкого визначення профілю лікарської резистентності *M. tuberculosis*. Скорочення часу діагностики з 4-8 тижнів (культуральні методи) до 3-4 годин (мікрофлюїдний чіп) дозволить клініцистам своєчасно коригувати схеми лікування пацієнтів з мультирезистентним туберкульозом, що покращить клінічні результати, знизить смертність та зменшить ризик трансмісії резистентних штамів у популяції [18, 21].

Економічна ефективність розробленого чіпу забезпечується мініатюризацією процесу аналізу та зниженням споживання дорогих біохімічних реагентів (Taq-полімераза, флуоресцентні зонди) у мікрооб'ємах, що знижує собівартість одного аналізу порівняно з традиційними лабораторними методами ПЛР [24]. Інтеграція всіх етапів аналізу на одній платформі мінімізує ризик контамінації та людських помилок, що підвищує надійність результатів діагностики [15, 16].

Розроблений технічний файл відповідає всім вимогам Регламенту (ЄС) 2017/746 та українського законодавства (Постанова КМУ № 753 від 02.10.2013, Наказ МОЗ № 239 від 02.04.2014) і може бути використаний виробником для проходження процедури оцінки відповідності за участю нотифікованого органу, отримання сертифіката відповідності ЄС та введення виробу в обіг на європейському ринку та в Україні [9, 11, 12].

Ця розробка може стати основою для майбутніх досліджень у сфері створення мікрофлюїдних діагностичних пристроїв для виявлення інших інфекційних захворювань (наприклад, ВІЛ, гепатити, COVID-19) та розширення панелі генів резистентності *M. tuberculosis* для виявлення широкої лікарської резистентності (XDR-TB). Модульна архітектура чіпу дозволяє адаптувати технологію для різних діагностичних цілей шляхом заміни специфічних праймерів та зондів [15, 24].

Впровадження мікрофлюїдних технологій у клінічну діагностику туберкульозу сприятиме досягненню цілей Всесвітньої організації охорони здоров'я щодо ліквідації туберкульозу як проблеми глобального здоров'я до 2035 року, забезпечуючи швидку, точну та доступну діагностику лікарської резистентності для всіх пацієнтів незалежно від їх соціально-економічного статусу [18].

II. СПИСОК ОБОВ'ЯЗКОВИХ ВИМОГ

2.1. Регуляторні вимоги до медичних діагностичних виробів *in vitro*

Виробництво та обіг медичних діагностичних виробів *in vitro* (IVD) регламентується низкою нормативних актів, які визначають вимоги до їхньої якості, безпеки та ефективності. Ці вимоги формуються на рівні як національного, так і міжнародного права, інтегруючись у єдину систему регуляторного контролю. Основою цієї системи є технічне регламентування, стандартизація та оцінка відповідності.

В Україні регуляторну основу становлять постанови Кабінету Міністрів № 754, № 753 та № 755 від 02.10.2013, що затверджують відповідно Технічний регламент щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*, загальний технічний регламент та регламент щодо активних імплантованих медичних виробів [10–12]. У відповідності до цих регламентів, всі IVD-вироби підлягають обов'язковій оцінці відповідності перед введенням в обіг, а також повинні супроводжуватися технічною документацією, що підтверджує дотримання встановлених вимог.

Ключовим міжнародним нормативом у сфері управління якістю при виробництві медичних виробів є стандарт ISO 13485:2016, який в Україні затверджено як ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2]. Цей стандарт установлює вимоги до системи управління якістю, зокрема щодо процесів проектування, розробки, виробництва та постачання медичних виробів, включаючи IVD. Наявність сертифікованої системи менеджменту якості відповідно до ISO 13485 є обов'язковою умовою для проходження процедури оцінки відповідності.

Підхід до класифікації виробів базується на рівні ризику, який вони становлять для пацієнта. Вироби для діагностики *in vitro*, відповідно до українського нормативного законодавства, поділяються на чотири категорії: вироби загального призначення, вироби, наведені у списках А та Б, та вироби для самотестування [10]. Ця класифікація визначає подальшу процедуру

оцінки відповідності: чи може вона бути здійснена на підставі внутрішнього контролю якості, чи потребує залучення нотифікованого органу.

Аналіз структури вимог показує, що значна увага приділяється саме забезпеченню простежуваності процесів, контролю ризиків, валідації методик, зокрема для клінічного використання виробів. Відповідно, технічна документація повинна містити дані щодо досліджень безпечності, стабільності, аналітичної специфічності та чутливості, що особливо актуально для новітніх IVD-платформ, таких як мікрофлюїдні системи [13].

Положення Директиви 98/79/ЕС, яка тривалий час залишалась базовим документом у сфері IVD в Європейському Союзі, втратили чинність із введенням Регламенту (EU) 2017/746 (IVDR), який значно посилив вимоги до клінічної оцінки, постмаркетингового нагляду, а також до залучення нотифікованих органів у процесі сертифікації [1]. У національне законодавство ці положення імплементуються через механізми технічного регламентування, зокрема на основі Закону України «Про технічні регламенти та оцінку відповідності» [5].

Нормативна база формує чітку ієрархію вимог: від міжнародних стандартів якості (ISO 13485) і загальних принципів безпеки до специфічних положень технічного регламенту, що стосуються IVD-виробів. У технічному файлі ми виходимо з того, що повноцінна реалізація регуляторних вимог можлива лише за умови належної інтеграції стандартів, процедур контролю якості та ризик-менеджменту в процес створення технічного файлу.

Важливим аспектом регуляторних вимог до медичних виробів для *in vitro* діагностики також є забезпечення якості вимірювань та їх прослідковуваність. У цьому контексті варто звернути увагу на стандарт ДСТУ EN ISO 15189:2015 [3], який встановлює вимоги до компетентності медичних лабораторій. Хоча цей стандарт безпосередньо стосується діяльності лабораторій, а не виробників діагностичного обладнання, він формує суттєві вимоги до аналітичних характеристик методів, які мають бути враховані при

розробці діагностичних систем, особливо таких інноваційних, як мікрофлюїдні платформи.

Заслуговує на увагу питання застосування ризик-орієнтованого підходу до розробки та впровадження діагностичних виробів. Відповідно до міжнародної практики, а також згідно з настановами МОЗ України [8], виробник зобов'язаний не лише виявляти та оцінювати потенційні ризики, а й впроваджувати відповідні запобіжні заходи на всіх етапах життєвого циклу виробу. Проведений нами аналіз регуляторних документів показує, що для мікрофлюїдних систем особливу увагу слід приділяти оцінці ризиків, пов'язаних із забезпеченням стерильності, біологічної сумісності матеріалів, стабільності аналітичних характеристик в умовах тривалого зберігання та транспортування.

Процедура оцінки відповідності для IVD-виробів має певну специфіку залежно від їх категорії. Відповідно до постанови КМУ № 754 [10], процедура для виробів списку А включає повний аудит системи якості та детальну перевірку технічної документації нотифікованим органом. Враховуючи, що мікрофлюїдні чіпи для виявлення генів резистентності патогенів можуть бути класифіковані як вироби списку Б, для них також передбачається залучення нотифікованого органу, проте з меншим обсягом перевірок, що зосереджуються переважно на документації щодо розробки та контролю виробництва.

Окремої уваги заслуговує питання валідації аналітичних характеристик IVD-систем. Згідно з наказом МОЗ № 294 [6], а також у відповідності до загальноприйнятих практик, виробник має надати дані щодо аналітичної чутливості, специфічності, повторюваності та відтворюваності результатів. Для мікрофлюїдних систем, що використовуються для ідентифікації генів резистентності, особливо важливим є підтвердження аналітичної специфічності з урахуванням можливих генетичних варіацій патогенів та наявності перехресних реакцій. Як показано в дослідженні S. Chen та співавт.

[14], для таких систем критичними параметрами є також межа детекції та лінійний діапазон визначення цільових послідовностей ДНК.

Впровадження єдиної системи ідентифікації та простежуваності медичних виробів, передбаченої наказом МОЗ України від 10 лютого 2017 року № 122 [7], також має безпосередній вплив на технічні вимоги до маркування та супровідної документації IVD-виробів. Для мікрофлюїдних чіпів це створює додаткові виклики через мініатюризацію конструкції та необхідність збереження маркування в умовах різноманітних процедур обробки.

З точки зору клінічної валідації мікрофлюїдних систем для ідентифікації генів резистентності, важливим аспектом є врахування епідеміологічних даних щодо поширеності антибіотикорезистентності. Як зазначено у дослідженні Tang P.C. та співавт. [22], для забезпечення належної валідації такі системи мають бути протестовані на клінічних ізолятах з різними механізмами резистентності, що відображають актуальну епідеміологічну ситуацію. Це є особливо важливим з огляду на глобальне поширення антибіотикорезистентності, про яке повідомляє ВООЗ [25].

У контексті технічного регламентування також варто звернути увагу на спеціальні вимоги до виробів, що використовують програмне забезпечення для аналізу результатів. Як показано в дослідженні Zhu C. та співавт. [27], для мікрофлюїдних систем із вбудованими алгоритмами аналізу даних необхідна валідація не лише апаратної частини, а й програмних рішень. Відповідно до інструкційних вказівок МОЗ [8], така валідація має включати тестування на стійкість до помилок користувача, перевірку алгоритмів інтерпретації результатів та оцінку впливу оновлень програмного забезпечення на аналітичні характеристики.

Врахування всіх зазначених регуляторних вимог є необхідною умовою для успішної розробки та впровадження мікрофлюїдних діагностичних систем, що дозволить забезпечити їх безпечність, ефективність та відповідність чинним нормативним актам.

2.2. Структура технічного файлу відповідно до вимог ISO 13485

У контексті нормативного забезпечення обігу медичних виробів, технічний файл постає як ключовий документ, що узагальнює відповідність продукції встановленим стандартам, зокрема вимогам ISO 13485:2016. Структура цього файлу формується на перетині двох векторів: міжнародних стандартів управління якістю та положень національного технічного регламентування. Ми виходимо з того, що ефективне впровадження технічного файлу є не лише юридичною вимогою, а й критерієм операційної зрілості виробника.

Згідно з положеннями ISO 13485 [2], технічний файл повинен містити комплексну інформацію про медичний виріб, що дозволяє ідентифікувати, відтворити, оцінити його якість і простежити відповідність на кожному етапі життєвого циклу. У нормативному середовищі Європейського Союзу така документація є частиною *conformity assessment procedure*, що визначена Регламентом (EU) 2017/746, а в Україні — постанова КМУ № 754 [10].

Виділяють низку обов'язкових компонентів технічного файлу, які структуруються відповідно до логіки ISO 13485 і гармонізованих документів (зокрема MEDDEV guidelines та MDCG recommendations). Передусім ідеться про загальний опис виробу, включаючи його призначення, класифікацію та ключові технічні характеристики. Саме цей блок формує початкову основу для ідентифікації виробу в регуляторному середовищі та визначення відповідної процедури оцінки відповідності.

Наступним логічним блоком є опис процесів проектування та розробки, включаючи вхідні вимоги, контроль змін, протоколи валідації, а також результати тестувань, які підтверджують відповідність критеріям безпеки й ефективності. У межах національного методичного підходу до формування технічного файлу на медичний виріб, окресленого в посібнику для магістрантів [18], акцент робиться на інтеграції таких етапів, як аналіз ризиків (на основі ISO 14971), верифікація методик, доклінічні й клінічні дослідження (*in vitro/in vivo*).

Значущою частиною є дані про виробництво: специфікації матеріалів, технологічна схема, контроль критичних параметрів, система відстежуваності та дотримання принципів GMP (Good Manufacturing Practice). Цей компонент відображає здатність виробника реалізувати належну систему забезпечення якості, як це визначено в пунктах 7.5 та 8 ISO 13485 [2], і регламентовано наказом МОЗ № 294 [6].

Окрему увагу вимагають блоки, пов'язані з вимогами до маркування та інструкцій із застосування — у тому числі мовними аспектами, символами, структурою інструкції, що визначаються як у національному регламенті [12], так і міжнародних стандартах (EN 1041, ISO 15223-1). Нами встановлено, що ці розділи слугують не лише засобом інформування користувача, а й мають правове значення у сфері відповідальності виробника.

Також необхідними елементами є декларація про відповідність, звіти про валідацію, списки стандартів, що були використані, копії сертифікатів та результати моніторингу після випускного нагляду. У структурі, запропонованій в українському методичному посібнику з формування технічного файлу [18], усі ці елементи систематизовано у чітко визначені розділи — від вступу до розділу про стерилізацію, із врахуванням особливостей конкретного типу виробу.

В умовах сучасного проектування технічна документація не є суто формальним звітом, а інтегрується в логіку R&D-процесу.

Технічний файл у вимірі ISO 13485 — це структурований масив інформації, що забезпечує прозорість, відповідність і відповідальність виробника. Він водночас слугує інструментом самоконтролю, доказової бази перед регулятором і основою для безперервного вдосконалення процесів якості. Його правильне формування є не лише вимогою, а індикатором культури виробництва у сфері медичних технологій.

Детальніший аналіз вимог до технічного файлу дозволяє виокремити додаткові специфічні елементи, що безпосередньо впливають на якість та відповідність документації у контексті системного підходу ISO 13485.

Насамперед, важливим компонентом технічного файлу є розділ про валідацію процесів стерилізації та гарантування стерильності. Хоча не всі медичні вироби підлягають стерилізації, для діагностичних систем, що контактують із біологічним матеріалом, цей аспект є критично важливим. Як зазначено у посібнику з формування технічного файлу [18], для подібних виробів, зокрема мікрофлюїдних систем, необхідно документувати методи забезпечення стерильності, валідацію процесів, контроль бактеріальних ендотоксинів та обґрунтування обраного рівня гарантування стерильності (SAL).

Істотного значення набуває також розділ технічного файлу, присвячений верифікації та валідації аналітичних характеристик. Згідно з рекомендаціями, викладеними у роботі [13], технічний файл має містити дані, що демонструють відповідність виробу заявленим характеристикам, включаючи: аналітичну чутливість (межа виявлення), специфічність, точність, прецизійність, повторюваність, відтворюваність, а для кількісних методів – також лінійність, правильність і діапазон вимірювань. Цей розділ набуває особливого значення для мікрофлюїдних платформ з огляду на інноваційність технології та необхідність підтвердження її ефективності порівняно з традиційними методами.

Окремим компонентом технічного файлу, важливість якого підкреслюється в роботі S. Chen та співавт. [14], є документація щодо програмного забезпечення. Для сучасних діагностичних систем, особливо тих, що реалізують комплексні алгоритми аналізу (як у випадку ідентифікації генів резистентності), програмне забезпечення часто є невід'ємною складовою виробу. Відповідно до вимог ISO 13485, технічний файл має містити інформацію про архітектуру програмного забезпечення, алгоритми аналізу даних, методи валідації, заходи з мінімізації ризиків, пов'язаних із програмними помилками, та процедури оновлення ПЗ протягом життєвого циклу виробу.

Важливим елементом є також документація щодо проведення клінічних досліджень. Як зазначено у дослідженнях J. Kim [19] та K. Song [20], для

діагностичних систем необхідно надати дані клінічних випробувань, що підтверджують клінічну ефективність виробу в цільовій популяції пацієнтів. Технічний файл має містити протоколи клінічних досліджень, звіти про результати, статистичний аналіз та порівняння з референтними методами. Для мікрофлюїдних систем, призначених для виявлення генів резистентності, особливо важливо продемонструвати клінічну чутливість і специфічність на репрезентативній вибірці клінічних зразків, що відображають різні механізми резистентності та різноманітні матриці зразків (кров, мокротиння, тощо).

Розділ про маркування та інформацію для користувачів також має певні особливості. Відповідно до технічного регламенту [12], маркування та інструкції з використання повинні містити всю необхідну інформацію для безпечного та ефективного застосування виробу. Для мікрофлюїдних систем, зважаючи на їхню складність та інноваційність, цей розділ набуває особливого значення, оскільки має забезпечити належне розуміння принципів роботи системи кінцевим користувачем. У технічному файлі мають бути наведені зразки етикеток, макети інструкцій з використання, що включають детальний опис процедури аналізу, інтерпретації результатів, обмежень методу та потенційних інтерферентів.

Не менш важливим є розділ, присвячений системі постмаркетингового нагляду. Як зазначено у посібнику з формування технічного файлу [18], виробник має розробити та впровадити процедуру активного збору та аналізу інформації про функціонування виробу після його введення в обіг. У технічному файлі має бути представлений план постмаркетингового нагляду, що включає методи збору даних, критерії оцінки повідомлень про інциденти, процедури впровадження коригувальних дій та схему періодичного оновлення оцінки співвідношення користь/ризик.

Критичним компонентом технічного файлу є також розділ про управління ризиками. Як визначено у роботі А. Jalili [17], цей розділ має включати звіт про управління ризиками, що демонструє систематичний підхід до ідентифікації, аналізу, оцінки та контролю ризиків на всіх етапах життєвого

циклу виробу. Для мікрофлюїдних систем особливої уваги потребують ризики, пов'язані з точністю результатів аналізу, особливо в контексті виявлення резистентності до антибіотиків, де хибний результат може мати серйозні клінічні наслідки.

Аналіз структури технічного файлу також виявляє необхідність включення розділу про верифікацію та валідацію виробничих процесів. Як підкреслено у дослідженні Volpatti та Yetisen [24], для складних діагностичних систем, таких як мікрофлюїдні чіпи, якість кінцевого продукту значною мірою залежить від контролю виробничих процесів. У технічному файлі мають бути наведені дані щодо валідації критичних етапів виробництва, методів контролю якості, специфікацій матеріалів та компонентів, а також результати випробувань стабільності готового виробу в різних умовах зберігання та транспортування.

Таким чином, формування технічного файлу для медичного виробу, особливо такого інноваційного як мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів резистентності, вимагає системного підходу, що охоплює всі аспекти життєвого циклу виробу та забезпечує належний рівень документального підтвердження його безпеки, якості та ефективності відповідно до вимог ISO 13485 та актуальних регуляторних норм.

2.3. Європейські директиви та регламенти щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*

Регуляторне поле Європейського Союзу у сфері медичних виробів для діагностики (IVD) зазнало фундаментальних змін із переходом від Директиви 98/79/ЕС до Регламенту (EU) 2017/746 (IVDR). Ці зміни стосуються не лише оновлення термінології чи процедур, а містять структурне посилення вимог до безпеки, якості та відповідальності виробника на всіх етапах життєвого циклу виробу. У центрі цих трансформацій — нова логіка ризик-орієнтованого

регулювання, що робить IVDR однією з найбільш вимогливих нормативних баз у галузі медичних технологій.

Директива 98/79/EC, чинна з 1998 року, започаткувала загальноєвропейський підхід до регулювання IVD-виробів. Основна її мета полягала у встановленні єдиного ринку для таких виробів та забезпеченні їхньої безпечності. Проте з плином часу виявилась потреба у модернізації вимог, що не враховували стрімкий розвиток біотехнологій, цифрових рішень та персоналізованої медицини. Цей виклик був вирішений через ухвалення IVDR — Регламенту, що набрав чинності 26 травня 2017 року, з обов'язковим повним застосуванням з 26 травня 2022 року.

Регламент (EU) 2017/746 запроваджує нову систему класифікації виробів, засновану на рівні ризику, що охоплює чотири класи: A, B, C та D. Така деталізація дозволяє встановити пропорційні вимоги до оцінки відповідності — від самостійного декларування до повної участі нотифікованого органу та незалежної лабораторії. У рамках IVDR лише вироби класу A (із нестерильним застосуванням) можуть бути виведені на ринок без залучення зовнішнього органу. Це радикально змінює ситуацію в порівнянні з попереднім режимом, де більшість виробів могли бути введені на ринок через самодекларацію відповідності виробника.

Важливою відмінністю IVDR є інтеграція вимог до системи якості виробника, включаючи її сертифікацію відповідно до ISO 13485, обов'язковість клінічної оцінки, а також впровадження безперервного постмаркетингового нагляду та оновлення технічної документації. Як зазначено в методичних вказівках до застосування Технічного регламенту [8], уся документація має відповідати сучасним принципам верифікації, валідації та прослідковуваності, включаючи процедури оцінки ефективності (performance evaluation), моніторингу після маркування (post-market performance follow-up) і звітності про небажані події.

Особливої уваги заслуговує роль EUDAMED — європейської бази даних медичних виробів, яка стала обов'язковим інструментом регуляторної

прозорості. IVDR вимагає, аби виробники, імпортери та уповноважені представники реєстрували свої вироби в цій системі, забезпечуючи відкритий доступ до технічної інформації, що сприяє підвищенню довіри користувачів і контролю з боку регуляторних органів.

Ще одним нововведенням є вимоги до клінічних доказів. Виробники повинні обґрунтувати ефективність виробу на основі аналітичної валідації, клінічного підтвердження та післявипускового контролю. У цьому контексті посилено роль клінічних лабораторій та незалежних установ, що проводять оцінювання даних.

На тлі цих змін суттєво підвищуються вимоги до документації на рівні технічного файлу. Як підкреслено в навчальному посібнику щодо формування технічного файлу [18], новий регламент зобов'язує виробника не лише зафіксувати відповідність виробу встановленим вимогам, а й продемонструвати її систематичність у межах системи управління якістю. Це включає повну трасування — від початкового проектування до післявипускових спостережень, що є непростим завданням, особливо для інноваційних виробів, як-от мікрофлюїдні платформи.

В даному аналізі ми виходимо з того, що IVDR не лише гармонізує правила, а й створює новий рівень нормативної культури, в якому акцент робиться на доказовість, простежуваність та відповідальність. Це зумовлює потребу у фундаментальному переосмисленні підходів до розробки, валідації та оцінки IVD-технологій, а також у переорієнтації освітніх програм, які готують майбутніх біоінженерів до роботи в умовах жорстких регуляторних вимог.

Досліджуючи українське регуляторне поле для *in vitro* діагностичних виробів, варто зазначити, що воно формувалося шляхом поступової імплементації європейських норм у національне законодавство. Технічний регламент щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*, затверджений постановою КМУ № 754 [10], є ключовим документом, що визначає вимоги до таких виробів в Україні. Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів

резистентності, який функціонує поза організмом людини та працює з біологічними зразками, підпадає саме під дію цього регламенту.

Аналізуючи вимоги технічного регламенту до *in vitro* діагностичних виробів, важливо відзначити систему класифікації, яка визначає процедуру оцінки відповідності. Оскільки мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів резистентності потенційно може використовуватися для діагностики інфекційних захворювань та визначення чутливості до антибіотиків, він, вірогідно, потрапляє до категорії виробів списку Б згідно з додатком 2 до Технічного регламенту [10]. Це зумовлює необхідність застосування модулів оцінки відповідності, що передбачають залучення органу з оцінки відповідності, акредитованого в національній системі акредитації.

Процедура оцінки відповідності для таких виробів в Україні передбачає декілька можливих шляхів, зокрема: декларування відповідності на основі повного забезпечення якості (додаток 4 до Технічного регламенту) або декларування відповідності на основі перевірки продукції (додаток 5). Вибір конкретного модуля залежить від особливостей виробу, системи якості виробника та інших чинників, проте у будь-якому випадку технічна документація має містити всі елементи, визначені у пункті 3 додатку 3 до Технічного регламенту [10].

Важливим аспектом регулювання обігу IVD-виробів в Україні є впровадження системи ринкового нагляду, що регламентується Законом України "Про державний ринковий нагляд і контроль нехарчової продукції" та Постановою КМУ № 1069 від 28 грудня 2016 року. Ця система спрямована на виявлення небезпечної продукції на ринку та вжиття відповідних заходів для захисту споживачів. Для мікрофлюїдних діагностичних систем, особливо тих, що використовуються для виявлення антибіотикорезистентності, належний ринковий нагляд є критично важливим з огляду на потенційний вплив результатів діагностики на вибір терапії.

Відповідно до наказу МОЗ України від 10 лютого 2017 року № 122 [7], виробники медичних виробів для діагностики *in vitro* мають бути

zareestrovani u Reestri osib, vidpovidalnih za vvedennia medichnih virobiv v obig. Cya vimoга stosuetsya i virobnykiv mikrofluidnykh sistem, sho rozroblyayutsya dlya vykorystannia v Ukraini.

U konteksti implemентації європейських норм v ukraїnske zakonodavstvo vazhlyvo vidznachyti takozh nakaz MOZ Ukraini vid 22 sichnia 2020 roku № 142 [8], ykyy zatverджує instrukciyni vkazivky sho do zastosuвання tekhnichnykh reglamentiv. Ci vkazivky mistyay detalnyi roz'yasnenня sho do klasyfikatsii virobiv, vymog do tekhnichnoyi dokumentatsii, protsedur oцiнки vidpovidnosti ta postmarketingovoho nagliady. Dlya rozrobnykiv mikrofluidnykh diagnostichnykh sistem vony є цiнним dжерелом iнформації sho do praktichnogo zastosuвання regulyatornykh vymog.

Osoblyvyi iнтерес stanovlyay spetsyfični vymogy do klinichnykh dokaziv efektyvnosti IVD-virobiv v ukraїnskomu regulyatornomu poli. Vidpovidno do instrukciynykh vkazivok [8], klinichni dokazy mayut vkluchaty dani sho do analitichnoyi efektyvnosti (chutlivist, spetsyfiчnist, toчnist, povtoruyaniст) ta klinichnoyi efektyvnosti (diagnostychna chutlivist, spetsyfiчnist, prognostychna цiнnist rezulytativ). Dlya mikrofluidnykh sistem, sho vyivlyayut geni rezystentnosti, ce oznachae neobхidnist provedennia validatsiynykh doslidzhen iz vykorystanniam klinichnykh izolyativ, sho predstavlyayut riзni mekhanizmy rezystentnosti, yki poшиreni v Ukraini, sho vidpovidaє pidkhodu, zaznachеному u doslidzhenni Tang P.C. ta spivavt. [22].

Z oglyady na zrostanня problemy antybiotykorезystentnosti, yak zaznacheno u zvitі BOOЗ [25], rozrobka efektyvnykh diagnostichnykh sistem dlya vyivlenня geniv rezystentnosti є priorytetnym napryamom rozvytku medychnoi diagnostyki. Dlya takykh sistem, sho rozroblyayutsya dlya vykorystannia v Ukraini, osoblyvoho znachennia nabyvae vidpovidnist vymogam DSTU EN ISO 13485:2018 [2], sho vstanovlyue standarty systemy upravlinnya yakistyu dlya virobnykiv medychnykh virobiv, ta DSTU EN ISO 15189:2015 [3], sho viznachae vymogy do yakosti ta kompetentnosti medychnykh laboratoriy.

Цікавим аспектом є також підхід до валідації програмного забезпечення, що використовується у мікрофлюїдних діагностичних системах. Як показано у дослідженні Zhu С. та співавт. [27], сучасні мікрофлюїдні платформи часто інтегрують складні алгоритми аналізу даних. В українському регуляторному полі вимоги до таких програмних рішень визначаються пунктом 12.1 технічного регламенту [10], а також положеннями ДСТУ EN 62304:2014 "Програмне забезпечення медичних виробів. Процеси життєвого циклу програмного забезпечення".

Відповідно до наказу МОЗ № 294 [6], результати досліджень *in vitro* мають враховувати можливість інтерференцій з іншими речовинами, що можуть бути присутні у зразку. Для мікрофлюїдних систем, що працюють з різними типами біологічних зразків (кров, мокротиння, тощо), це вимагає проведення специфічних досліджень щодо впливу матриці зразка на результати аналізу.

Розробка мікрофлюїдного чіпа для ідентифікації генів резистентності для використання в Україні вимагає комплексного підходу до формування технічної документації, що відповідає всім вимогам національного законодавства та гармонізованих з європейськими стандарти. Це забезпечить не лише відповідність регуляторним вимогам, а й високу якість та безпеку виробу для кінцевих користувачів.

2.4. Особливості технічної документації для мікрофлюїдних систем

У межах сучасної біомедичної інженерії мікрофлюїдні системи (Lab-on-a-Chip) займають особливе місце як високотехнологічні діагностичні платформи, здатні інтегрувати складні аналітичні процеси в одному пристрої з мінімальними об'ємами реагентів і зразків. Їхня поява змінила підхід до *in vitro* діагностики, актуалізувавши необхідність переосмислення вимог до технічної документації, яка супроводжує такі вироби. У нашому дослідженні ми виходимо з того, що особливості мікрофлюїдних систем вимагають глибшої деталізації проектної, функціональної та валідаційної складової технічного файлу.

Стандартизована структура документації згідно з ISO 13485 [2] залишається основою, однак її реалізація у випадку мікрофлюїдних платформ супроводжується низкою ускладнень, пов'язаних із мультифункціональністю та міждисциплінарністю таких виробів. Адже, ці системи поєднують механічні, електронні, біохімічні та ІТ-компоненти, що потребує опису не лише технологічних особливостей, а й алгоритмів інтеграції підсистем та узгодження між ними.

Один із центральних викликів — забезпечення прослідковуваності параметрів мікрофлюїдної системи: від виготовлення мікроканалів і покриттів до налаштування мікропомп, температурного контролю та зчитувальних модулів. Цей рівень деталізації унеможливорює використання спрощених шаблонів документації, притаманних традиційним IVD-системам. У приклад можна навести структуру технічного файлу в дослідженні S. Chen і співавт. [14], де виділено окремий розділ для опису мікропроцесів пробопідготовки, ампліфікації та виявлення сигналу в умовах мініатюризації реакції.

Вимоги до валідації стають особливо критичними. Для мікрофлюїдних систем аналітична ефективність залежить не лише від якості реагентів чи специфічності тесту, а й від фізичних параметрів потоку, матеріалів чипа, типу детекції. У дослідженнях J. Kim і співавт. [19], а також K. Song та ін. [20] наведено алгоритми тестування стабільності потоку, ефективності літичної фази, ефективності екстракції нуклеїнових кислот, що демонструє складність валідаційних сценаріїв і потребу в адаптованих протоколах. У технічному файлі ці протоколи мають бути відображені через блок «докази ефективності» (performance evidence), із зазначенням методів калібрування, точності, чутливості та варіабельності результатів.

До того ж, мікрофлюїдні пристрої часто поєднують функції пробозабору, підготовки зразка, ампліфікації й детекції, що робить їх не просто платформою, а повноцінною діагностичною системою. Така інтеграція вимагає від розробника чіткого обґрунтування кожного етапу — включно з розділенням функцій модулів, їхньою взаємодією та збереженням стабільності

аналізу в реальному часі. Це підвищує значущість моделей валідації відповідно до сценаріїв «польового використання» (real-world performance), як того вимагає Регламент IVDR [1].

Важливою особливістю є необхідність поєднання традиційної документації з інженерними моделями. Так, для візуалізації мікроструктур чипа в документацію додаються CAD-моделі, результати моделювання розподілу потоку, теплових режимів або масопереносу, що характерно для сучасних мультифізичних симуляцій. У низці робіт, зокрема А. Jalili [17] і М. Karle [18], наголошується на значущості саме експериментально підтверджених симуляційних даних як частини технічного обґрунтування.

Особливу роль відіграє також розділ оцінки біологічної безпеки матеріалів, що використовуються у виробі. Для традиційних IVD-систем цей компонент є формальним, однак у мікрофлюїдних пристроях, де можливе пряме чи опосередковане взаємодіяння з біологічними рідинами, необхідна верифікація інертності матеріалів, відсутності токсичних виділень або адсорбції аналіту. Це вимагає додаткових розділів у технічному файлі щодо відповідності ISO 10993, а також результатів досліджень на біосумісність.

У контексті вимог до інструкцій з експлуатації спостерігається ще один виклик: більшість мікрофлюїдних систем потребують специфічної підготовки користувача, що має бути відображено через розділи з детальними схемами введення зразка, етапами запуску, інтерпретації результатів. Особливо це актуально для виробів, що орієнтовані на точкову діагностику (point-of-care), де користувач — не завжди медичний працівник. Документація має містити пілотні сценарії використання, валідаційні карти помилок, а також результати юзабіліті-тестування відповідно до ISO 62366.

Технічна документація мікрофлюїдних систем — це не просто адаптація стандартного файлу, а переосмислення його логіки у контексті складної, мультикомпонентної структури виробу. Ми вважаємо, що формування такої документації вимагає не лише знання регламентів, а й глибокого розуміння фізико-хімічної природи процесів усередині системи. Це зумовлює

необхідність міждисциплінарної експертизи, інтеграції інженерних, біохімічних і регуляторних знань та постійного оновлення підходів до валідації.

Документування мікрофабрикаційних процесів становить окремий виклик при створенні технічного файлу для мікрофлюїдних чіпів. Кожен етап виробництва – від фотолітографії до бондингу шарів – потребує детального протоколювання з урахуванням специфіки створення мініатюрних структур. Дослідження Chung YC та співавт. [15] демонструє необхідність включення до технічного файлу параметрів процесу травлення, режимів плазмової обробки поверхонь та методів контролю геометрії мікроканалів з точністю до мікронів. Технічний файл має містити не лише номінальні значення, а й допустимі відхилення для кожного критичного параметра, які безпосередньо впливають на функціональність кінцевого виробу.

Мікрофлюїдні системи для виявлення генів резистентності потребують специфічної документації аналітичних характеристик. Розробка представлена Chen S та співавт. [14] підкреслює необхідність включення до технічного файлу даних щодо ефективності ампліфікації нуклеїнових кислот у мікрореакторі. Документація має містити порівняльний аналіз кінетики ПЛР у мікрофлюїдному форматі проти традиційних методів, підтвердження лінійності ампліфікації в діапазоні концентрацій цільових послідовностей та межі детекції для різних генів резистентності. Додатково необхідно документувати вплив мініатюризації на специфічність реакції, особливо при мультиплексному аналізі.

Інтеграція декількох функціональних модулів на одному чіпі створює додаткові вимоги до документації щодо валідації інтерфейсів між окремими компонентами. Дослідження Kim J та співавт. [19] акцентує увагу на критичній важливості документування процесів переносу зразка між різними функціональними зонами мікрочіпа – від лізису клітин до ампліфікації та детекції. Технічний файл має містити дані щодо ефективності цих переходів, включаючи відсоток втрат аналіту, ризику контамінації та валідацію

механізмів контролю потоку. Документування цих аспектів вимагає розробки специфічних протоколів тестування, адаптованих до мікромасштабних процесів.

Питання матеріалознавчого характеру потребують особливого підходу в технічному файлі мікрофлюїдних систем. Вибір матеріалів для мікрочіпа визначає не лише механічні властивості, але й аналітичні характеристики. Дослідження Song K та співавт. [20] демонструє, як взаємодія між матеріалом чіпа та біологічними молекулами може впливати на ефективність аналізу. Технічний файл має містити розділ із характеристикою матеріалів, даними про їхню біосумісність, інертність щодо аналітів, стабільність при різних температурних режимах та стійкість до хімічних реагентів. Документування цих характеристик включає результати прискорених випробувань старіння, тестування на адсорбцію/десорбцію цільових молекул та оцінку впливу поверхневих властивостей на гідродинаміку потоку.

Управління даними та алгоритми інтерпретації результатів складають окремий розділ технічного файлу для сучасних мікрофлюїдних систем. Дослідження Zhu C та співавт. [27] ілюструє, як цифрова обробка сигналу безпосередньо впливає на аналітичні характеристики системи. Документація має містити опис алгоритмів аналізу даних, методів нормалізації сигналу, критеріїв інтерпретації результатів та валідації програмного забезпечення. Для систем ідентифікації генів резистентності критично важливим є документування бази даних референтних послідовностей, алгоритмів розпізнавання мутацій та механізмів оновлення цієї бази при виявленні нових варіантів генів.

Калібрування та стандартизація мікрофлюїдних систем представляють додатковий виклик для технічної документації. На відміну від традиційних аналітичних систем, мікрофлюїдні платформи часто потребують специфічних підходів до калібрування, враховуючи мікромасштабні ефекти. Документація має детально описувати референтні матеріали для калібрування, процедури встановлення калібрувальних кривих, методи контролю дрейфу калібрування

та протоколи верифікації точності вимірювань. Дослідження Karle M та співавт. [18] показує, як важливо документувати ці аспекти для забезпечення відтворюваності результатів між різними партіями виробів.

Тестування стабільності реагентів у мікрофлюїдному форматі становить окремий розділ технічної документації. Мініатюризація реакції може суттєво впливати на стабільність реагентів через збільшення співвідношення площі поверхні до об'єму. Технічний файл має містити дані щодо стабільності реагентів при зберіганні безпосередньо на чіпі, впливу циклів заморожування/розморожування, фотостабільності та термостабільності в умовах мікрореактора. Документування цих аспектів вимагає розробки специфічних протоколів тестування, що враховують особливості мікрофлюїдного формату та цільового застосування системи.

Контроль якості виробничих процесів для мікрофлюїдних систем потребує специфічного документування. Дослідження Volpatti та Yetisen [24] підкреслює важливість вбудованих тестів для перевірки функціональності кожного компонента чіпа. Технічний файл має містити критерії прийнятності для кожного етапу виробництва, методи контролю якості проміжних продуктів та протоколи фінальної перевірки готового виробу. Документування цих аспектів включає статистичні дані про відсоток бракованих виробів, аналіз причин відмов та заходи з підвищення виходу придатної продукції.

Технічна документація щодо інтерфейсу користувача для мікрофлюїдних систем має враховувати специфіку роботи з мініатюрними компонентами. Зокрема, для застосувань діагностики біля місця надання медичної допомоги необхідно документувати ергономічні аспекти, інтуїтивність використання та ризики помилок користувача. Технічний файл має містити результати перевірки ергономічності з різними групами користувачів, аналіз потенційних помилок та заходи з їх мінімізації. Ці аспекти набувають особливого значення для систем ідентифікації генів резистентності, де помилкова інтерпретація результатів може призвести до неправильного вибору антибіотикотерапії.

Представлений аналіз специфічних вимог до технічної документації мікрофлюїдних систем підкреслює комплексність цього питання та необхідність міждисциплінарного підходу. Розробка технічного файлу для мікрофлюїдного чіпа з ідентифікації генів резистентності має базуватися на глибокому розумінні фізико-хімічних процесів, інженерних аспектів мікровиробництва та молекулярно-біологічних принципів виявлення генетичних маркерів.

Висновки до розділу 2

Проведений аналіз нормативного поля медичних діагностичних виробів *in vitro* демонструє багаторівневу систему регулювання, яка охоплює всі етапи життєвого циклу – від проектування та розробки до постмаркетингового нагляду. Національне законодавство України, представлене Технічним регламентом щодо медичних виробів для діагностики *in vitro* [10] та іншими нормативними актами, послідовно імплементує європейські підходи до регулювання, зокрема вимоги щодо класифікації виробів, процедур оцінки відповідності та системного управління ризиками.

Вимоги стандарту ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2] формують методологічну основу для структури технічного файлу, акцентуючи увагу на документуванні процесів проектування, виробництва та валідації виробу. Технічний файл виступає не просто комплектом документів, а цілісною системою, що забезпечує доказову базу для підтвердження безпеки, якості та ефективності. Виявлено, що для сучасних діагностичних систем критично важливими елементами технічного файлу стають розділи про валідацію аналітичних характеристик, клінічну ефективність, систему управління ризиками та постмаркетинговий нагляд.

Дослідження еволюції європейських регуляторних норм від Директиви 98/79/ЕС до Регламенту IVDR та їх впровадження в українське законодавство виявляє чітку тенденцію до посилення контролю, розширення доказової бази та підвищення прозорості. Для виробників діагностичних систем, зокрема мікрофлюїдних платформ, це створює додаткові виклики, пов'язані з

необхідністю більш детального документування процесів розробки та розширення обсягу валідаційних досліджень.

Мікрофлюїдні системи для ідентифікації генів резистентності представляють особливий клас діагностичних виробів, технічне документування яких вимагає специфічних підходів. Ключовими аспектами стають: детальне документування мікрофабрикаційних процесів, валідація аналітичних характеристик в мікромасштабі, підтвердження ефективності інтегрованих функціональних модулів та контроль якості на всіх етапах виробництва. Встановлено, що принципову важливість мають питання вибору та характеризації матеріалів, які визначають не лише механічні властивості мікрочіпа, але й впливають на аналітичні характеристики системи.

Окремим викликом є документування калібрування, стабільності реагентів та алгоритмів інтерпретації результатів для мікрофлюїдних систем. Мініатюризація реакцій створює специфічні умови, які потребують розробки адаптованих протоколів валідації та відповідного документального підтвердження їх ефективності. Для систем, що використовуються біля місця надання медичної допомоги, додатковий акцент робиться на документуванні ергономічності та мінімізації ризиків помилок користувача.

Сформований теоретичний базис регуляторних вимог та особливостей технічної документації створює основу для подальшої практичної розробки технічного файлу на мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів резистентності. У наступних розділах дослідження буде представлено конкретні методологічні підходи до формування окремих елементів технічного файлу з урахуванням виявлених особливостей та регуляторних вимог. Першочергову увагу буде приділено адаптації загальних вимог технічного регламенту до специфіки мікрофлюїдних платформ та розробці валідаційних протоколів, що відповідають актуальним стандартам якості та безпеки.

III. АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Аналіз ризиків медичних виробів здійснено на підставі вимог стандарту ISO 14971:2019 *Medical devices – Application of risk management to medical devices* [2], який визначає підхід до управління ризиками протягом усього життєвого циклу медичного виробу. Згідно з положеннями стандарту, основна увага приділяється саме оцінці ризиків, що виникають на етапах розробки, конструювання та виробництва, з метою виявлення потенційних небезпек ще до введення виробу в експлуатацію.

У процесі управління ризиками проводиться ідентифікація можливих джерел небезпек (біологічних, механічних, хімічних, програмних тощо), які можуть вплинути на безпечність і ефективність мікрофлюїдного чіпа вже на етапах його проектування та виготовлення. Визначаються потенційні несправності компонентів, недоліки в матеріалах, технологічних процесах, помилки у розробці програмного забезпечення та інші критичні фактори.

Процес управління ризиками включає:

- **аналіз ризику** (ідентифікація небезпек і передумов їх виникнення),
- **оцінювання ризику** (визначення ймовірності настання події та серйозності наслідків),
- **керування ризиком** (розробка заходів контролю, які зменшують ризики до прийняттого рівня),
- **моніторинг ефективності** впроваджених заходів протягом усього життєвого циклу виробу.

Усі процеси повинні бути документовані в межах системи управління якістю відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2], а також гармонізовані з положеннями Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro* [10]. Такий підхід дозволяє гарантувати не лише безпечне використання мікрофлюїдного чіпа, але й його безпечність та відповідність вимогам уже на стадії проектування та виготовлення.

Процес управління ризиками включає такі елементи: аналіз ризику, оцінювання ризику, управління ризиком та моніторинг ефективності впроваджених заходів контролю. Документовані процеси життєвого циклу продукції повинні включати відповідні елементи процесу менеджменту ризику згідно з вимогами ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2] та Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro* [10].

3.1. Формулювання передбаченого застосування та визначення характеристик безпеки

Мікрофлюїдний чіп призначений для швидкої ідентифікації генів антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів *Mycobacterium tuberculosis* шляхом екстракції ДНК та подальшої полімеразної ланцюгової реакції безпосередньо в мікрофлюїдній системі. Виріб відноситься до категорії медичних виробів для діагностики *in vitro* і призначений для використання у спеціалізованих лабораторіях кваліфікованим персоналом.

Передбачувані користувачі виробу – це лабораторний персонал, який проводить дослідження (оператори), та лікарі-фтизіатри, які отримують і інтерпретують результати для призначення відповідної терапії пацієнтам. Результати діагностики використовуються для вибору ефективної схеми антибіотикотерапії при лікуванні туберкульозу, що є критично важливим для запобігання розвитку мультирезистентних форм захворювання [25].

Характеристики, що відносяться до безпеки медичного виробу, включають герметичність мікрофлюїдних каналів для запобігання витоку біологічного матеріалу, біосумісність матеріалів конструкції, стабільність реагентів, точність термоконтролю для забезпечення коректного протікання ПЛР, а також аналітичну чутливість та специфічність методу виявлення генів резистентності [14, 20].

3.2. Ідентифікація небезпек та небезпечних ситуацій

Аналіз небезпек проводився з урахуванням специфіки медичних виробів для діагностики *in vitro* та особливостей роботи з патогенним біологічним матеріалом. Ідентифіковано декілька категорій небезпек, які можуть призвести

до виникнення небезпечних ситуацій під час нормальної експлуатації чіпу або внаслідок його відмови.

Біологічні небезпеки пов'язані з можливістю контакту персоналу з інфекційним матеріалом. Робота з культурами *Mycobacterium tuberculosis* відноситься до діяльності з підвищеним біологічним ризиком, оскільки цей збудник є високопатогенним та здатний передаватися повітряно-краплинним шляхом. Небезпечна ситуація виникає, коли порушується герметичність мікрофлюїдної системи і відбувається витік рідини, що містить бактеріальні клітини або їхню ДНК [13]. Контамінація робочої поверхні, обладнання або повітря лабораторного приміщення створює ризик інфікування персоналу.

Технічні небезпеки обумовлені конструктивними особливостями мікрофлюїдного пристрою. До них відносяться можливі дефекти з'єднання шарів чіпу, тріщини в мікроканалах, неправильне функціонування клапанів або насосів, відмова системи термоцикування. Дослідження мікрофлюїдних технологій показують, що якість з'єднань безпосередньо впливає на надійність роботи всієї системи [16, 24]. Порушення герметичності може статися як під час виготовлення внаслідок технологічних дефектів, так і в процесі експлуатації через механічні пошкодження або деградацію матеріалів.

Аналітичні небезпеки стосуються можливості отримання невірних діагностичних результатів. Для медичних виробів діагностики *in vitro* хибні результати є основною категорією небезпек, що можуть призвести до шкоди пацієнту [10]. Хибнонегативний результат означає, що наявні гени резистентності не були виявлені, що призведе до призначення антибіотиків, до яких у збудника вже сформувалася стійкість. Це спричинить неефективність лікування, прогресування захворювання та можливу передачу резистентного штаму іншим особам [25]. Хибнопозитивний результат створює ситуацію необґрунтованого обмеження терапевтичних опцій, коли ефективний антибіотик не призначається через помилкове виявлення генів резистентності до нього.

Небезпеки, пов'язані з процесом екстракції ДНК, включають неефективний лізис клітин, неповне видалення інгібіторів ПЛР, втрату нуклеїнових кислот на етапі очищення [15, 18, 19]. У мікрофлюїдних системах ефективність екстракції залежить від багатьох параметрів: часу інкубації з лізуючими агентами, температурного режиму, швидкості потоку рідини через канали, властивостей сорбентів для зв'язування ДНК. Недостатня оптимізація будь-якого з цих параметрів може призвести до низької концентрації виділеної ДНК і зниження чутливості подальшого аналізу.

Ризики термоциклювання виникають через можливість нерівномірного розподілу температури в реакційній камері. Мікрофлюїдні системи мають малий об'єм реакційної суміші, що з одного боку забезпечує швидке нагрівання та охолодження, але з іншого боку робить процес більш чутливим до локальних температурних градієнтів [17]. Неповна денатурація ДНК-матриці або неефективний відпал праймерів призводять до зниження виходу ампліфікації, особливо для низькокопійних мішеней, якими можуть бути деякі гени резистентності у зразках з невеликою бактеріальною навантаженням.

Контамінація між зразками або перенесення ампліконів є типовою небезпекою для ПЛР-систем [22]. У мікрофлюїдних пристроях малі об'єми та велика площа поверхні створюють сприятливі умови для адсорбції ДНК на стінках каналів. Навіть мінімальні залишки продуктів ампліфікації від попередніх аналізів можуть служити джерелом контамінації для наступних зразків. Це особливо критично при роботі з високочутливими методами детекції, коли можна виявити навіть одиничні копії ДНК.

Небезпеки людського фактору включають помилки оператора при завантаженні зразка, плутанину зразків, неправильну ідентифікацію проб, порушення протоколу роботи, використання неналежних реагентів або реагентів з простроченим терміном придатності [3]. У лабораторіях, де одночасно обробляється велика кількість зразків, ризик переплутування або перехресної контамінації зростає. Недостатня кваліфікація персоналу або

відсутність стандартних операційних процедур збільшують ймовірність виникнення таких помилок.

3.3. Визначення та оцінювання ризиків

Для визначення ризику необхідно розглянути як ймовірність виникнення небезпечної ситуації, так і тяжкість можливої шкоди. Згідно з підходом, викладеним у стандарті ISO 14971 та методичних рекомендаціях, для кожної ідентифікованої небезпеки аналізується ініціувальна подія, послідовність подій, що ведуть до небезпечної ситуації, ймовірність її виникнення та ймовірність учинення шкоди.

Оцінка тяжкості шкоди проводилася за шкалою: незначна (тимчасовий дискомфорт, мінімальні наслідки), помірна (тимчасове погіршення стану здоров'я, що потребує медичного втручання), серйозна (значне погіршення стану, тривале лікування, стійкі порушення функцій організму), критична (загроза життю, смерть, інвалідність). Ймовірність виникнення події оцінювалася як: вкрай малоїмовірна (практично виключена за умови дотримання всіх вимог), малоїмовірна (може статися в окремих випадках), ймовірна (періодично відбувається), висока (відбувається регулярно).

Ризик інфікування персоналу *Mycobacterium tuberculosis* при витоку біологічного матеріалу оцінений як серйозний за тяжкістю наслідків, оскільки туберкульоз є небезпечним захворюванням, що потребує тривалого лікування і може призвести до інвалідизації або смерті при відсутності адекватної терапії. Ймовірність події залежить від якості виготовлення чіпу та дотримання правил роботи з ним. При використанні якісних матеріалів та технологій виробництва, а також належних процедур в лабораторії ймовірність оцінюється як малоїмовірна. Проте навіть низька ймовірність у поєднанні з серйозною тяжкістю наслідків вимагає обов'язкового впровадження заходів контролю.

Ризик хибнонегативних результатів виявлення генів резистентності має критичну тяжкість наслідків для пацієнта. Призначення неефективних антибіотиків призводить до прогресування захворювання, розвитку

ускладнень, можливого летального результату та поширення резистентних штамів у популяції. Ймовірність хибнонегативних результатів може бути зумовлена як систематичними відмовами системи (неправильна конструкція праймерів, недостатня чутливість методу, наявність інгібіторів ПЛР), так і випадковими відмовами (дефект окремого чіпу, помилка оператора, деградація реагентів). Комбінація критичної тяжкості та потенційно помірної ймовірності робить цей ризик одним з найбільш значущих для даного медичного виробу.

Ризик хибнопозитивних результатів має помірну тяжкість наслідків. Необґрунтоване виключення ефективного антибіотика з схеми лікування звужує терапевтичні можливості, але за наявності альтернативних препаратів не призводить до критичних наслідків. Проте у випадках, коли кількість доступних антибіотиків обмежена внаслідок множинної резистентності, втрата навіть одного ефективного препарату може суттєво погіршити прогноз. Ймовірність хибнопозитивних результатів пов'язана з контамінацією зразків, перехресними реакціями праймерів або неспецифічною ампліфікацією.

Технічні відмови мікрофлюїдної системи можуть бути як випадковими (дефект матеріалу, механічне пошкодження під час транспортування), так і систематичними (помилки проектування, недостатня робастність конструкції до варіацій умов використання). Систематичні відмови важко піддаються кількісній оцінці, але їх можна мінімізувати шляхом ретельної валідації на етапі розробки та виробництва. Випадкові відмови оцінюються на основі даних про надійність матеріалів та компонентів.

3.4. Матриця оцінки ризиків

Для систематизації результатів оцінки ризиків використовується матричний підхід, що дозволяє класифікувати ризики за рівнем пріоритетності та визначити необхідність заходів контролю:

Тяжкість наслідків	Ймовірність виникнення			
	Вкрай малоїмовірна	Малоїмовірна	Ймовірна	Висока
Незначна	Низький	Низький	Помірний	Помірний
Помірна	Низький	Помірний	Високий	Високий
Серйозна	Помірний	Високий	Критичний	Критичний
Критична	Високий	Критичний	Критичний	Критичний

Ризики, що потрапляють у зону критичних та високих значень, вимагають обов'язкового впровадження заходів контролю. Помірні ризики також підлягають аналізу з метою визначення можливості та доцільності їх зниження. Низькі ризики, як правило, вважаються прийнятними, але також підлягають документуванню та періодичному перегляду.

3.5. Управління ризиками – заходи щодо їх зниження

Згідно з ієрархією заходів контролю, встановленою стандартом ISO 14971, пріоритет надається заходам, які усувають небезпеку на етапі проектування виробу. Такі заходи є найбільш надійними, оскільки не залежать від дій користувача або функціонування додаткових систем захисту.

Забезпечення безпеки конструкції медичного виробу включає використання біосумісних матеріалів, що пройшли відповідні випробування згідно з ISO 10993. Для мікрофлюїдного чіпу обирають матеріали з доведеною стійкістю до реагентів, що використовуються в процесі аналізу, та з мінімальним впливом на біологічні зразки. Конструкція каналів та камер повинна забезпечувати повну герметичність навіть при коливаннях температури під час термоциклювання. Застосування надійних технологій з'єднання шарів (термічне зварювання, УФ-склеювання, плазмова обробка) мінімізує ризик витоку рідини [16].

Для зниження ризику хибних результатів на етапі проектування проводиться ретельна оптимізація всіх стадій аналізу. Валідація процесу екстракції ДНК включає тестування на зразках з різною бактеріальною навантаженням, перевірку ефективності видалення інгібіторів, оцінку чистоти та концентрації виділеної нуклеїнової кислоти [19, 21]. Дизайн праймерів для ПЛР проводиться з використанням біоінформатичних інструментів, що дозволяє забезпечити високу специфічність до цільових генів резистентності та мінімізувати перехресні реакції [14, 20]. Експериментальна верифікація специфічності проводиться на панелі клінічних ізолятів з відомим профілем резистентності.

Система термоциклювання повинна забезпечувати точний контроль температури з мінімальними градієнтами в реакційній камері. Використання плазмонних наноструктур або інших сучасних підходів до швидкого та рівномірного нагрівання може покращити характеристики системи [17]. Валідація температурних режимів проводиться з використанням термочутливих індикаторів або мікротермопар для підтвердження досягнення необхідних значень у всьому об'ємі реакційної суміші.

Забезпечення безпеки шляхом впровадження захисних заходів реалізується на етапі виробництва. Кожен чіп проходить контроль герметичності перед випуском. Розробляються процедури перевірки функціональності критичних компонентів – клапанів, насосів, сенсорів температури. Впроваджується система контролю якості реагентів, що включає тестування на стабільність, активність, відсутність контамінації [27].

Для запобігання контамінації між зразками чіпи виготовляються як одноразові вироби. Використання закритої системи, де всі етапи від внесення зразка до детекції результатів відбуваються без розкривання, мінімізує ризик перенесення ампліконів у довкілля та контамінації наступних зразків [22]. У конструкцію можуть бути включені внутрішні контролю якості – позитивні та негативні контролю, що проходять весь процес аналізу паралельно зі зразком і дозволяють виявити технічні збої або контамінацію.

Забезпечення безпеки за допомогою надання інформації включає розроблення детальної інструкції з експлуатації, що містить чіткі вказівки щодо підготовки зразків, завантаження їх у чіп, параметрів роботи обладнання, інтерпретації результатів [8, 9, 12]. Маркування виробу повинно містити всі необхідні попередження про потенційні небезпеки, обмеження застосування, умови зберігання та транспортування. Особлива увага приділяється інформуванню про роботу з інфекційним матеріалом та необхідність дотримання біологічної безпеки.

Інструкція повинна містити опис можливих причин невірних результатів та рекомендації щодо їх запобігання. Зазначаються обмеження методу – діапазон бактеріального навантаження, при якому забезпечується надійне виявлення генів резистентності, можливі інтерференції з компонентами зразка, необхідність підтвердження результатів альтернативними методами у випадку клінічної невідповідності [23]. Надаються рекомендації щодо проведення внутрішнього контролю якості в лабораторії, участі у програмах зовнішньої оцінки якості згідно з ДСТУ EN ISO 15189:2015 [3].

Для мінімізації ризиків людського фактору розробляються програми навчання персоналу лабораторій. Навчання включає теоретичну частину (принципи роботи мікрофлюїдних систем, основи ПЛР-діагностики, правила біологічної безпеки) та практичні заняття з роботи з чіпами. Атестація операторів проводиться шляхом тестування на контрольних зразках. Лабораторії повинні мати стандартні операційні процедури для всіх етапів роботи, систему маркування зразків для запобігання плутанині, журнали реєстрації результатів [3].

3.6. Оцінка залишкових ризиків

Після впровадження всіх можливих заходів контролю проводиться оцінка залишкових ризиків – тих ризиків, які неможливо повністю усунути. Для мікрофлюїдного чіпу діагностики *in vitro* основними залишковими ризиками є можливість хибних результатів у нетипових клінічних ситуаціях, ризик виникнення нових мутацій резистентності, що не детектуються

поточним набором праймерів, та ризик помилок оператора, які не можна повністю виключити навіть при належному навчанні.

Залишковий ризик хибнонегативних результатів може бути обумовлений наявністю у збудника рідкісних механізмів резистентності, що не включені до панелі аналізу, або дуже низькою бактеріальною навантаженням у зразку, коли концентрація ДНК знаходиться на межі чутливості методу. Для управління цим ризиком в інструкції з експлуатації зазначається необхідність клінічної оцінки результатів та можливість проведення додаткових досліджень при підозрі на невідповідність між результатами тесту та клінічною картиною.

Залишковий ризик контамінації може виникнути при грубому порушенні правил роботи в лабораторії. Навіть використання одноразових чіпів не виключає можливості контамінації на преаналітичному етапі – під час підготовки зразків, якщо в лабораторії не дотримуються принципів розділення чистих та брудних зон. Цей ризик мінімізується організаційними заходами та вимогами до облаштування лабораторії, викладеними в інструкції.

Оцінка прийнятності залишкових ризиків проводиться шляхом співставлення їх з користю від застосування виробу. Для діагностики антибіотикорезистентності при туберкульозі швидке отримання результатів має критичне значення для своєчасного призначення ефективної терапії та запобігання поширенню мультирезистентних штамів [25]. Залишкові ризики, які залишаються після впровадження всіх заходів контролю, оцінюються як прийнятні з огляду на значну клінічну користь від застосування методу та за умови належного інформування користувачів про обмеження тесту.

3.7. Моніторинг та перегляд інформації про ризики

Процес управління ризиками не завершується на етапі виходу виробу на ринок, а передбачає постійний збір та аналіз поствиробничої інформації. Згідно з вимогами Технічного регламенту [9, 12] та наказу МОЗ України № 122 [7], виробник повинен підтримувати систему моніторингу виробів після їх реалізації. Ця система включає збір інформації про випадки несправностей,

скарги користувачів, дані про ефективність виробу в реальних умовах використання.

Аналіз поствиробничої інформації може виявити нові ризики, які не були ідентифіковані на етапі розробки. Наприклад, виявлення випадків хибних результатів у певних підгрупах пацієнтів може вказувати на необхідність розширення валідації методу або модифікації інструкції з експлуатації. Дані про комерціалізацію мікрофлюїдних пристроїв показують важливість збору зворотного зв'язку від користувачів для постійного вдосконалення виробу [24].

Поява нових наукових даних про механізми антибіотикорезистентності, виявлення нових генів або мутацій, що забезпечують резистентність, зміни в епідеміологічній ситуації вимагають періодичного перегляду аналізу ризиків [23, 26]. Оновлення технічної документації проводиться відповідно до вимог системи управління якістю [2, 4]. Користувачів інформують про будь-які зміни, що можуть вплинути на безпеку або ефективність застосування виробу.

Таким чином, комплексний підхід до управління ризиками, що включає їх ідентифікацію, оцінку, впровадження заходів контролю та постійний моніторинг, забезпечує підтримання належного рівня безпеки та ефективності мікрофлюїдного чіпу для ідентифікації генів набутої резистентності протягом усього життєвого циклу медичного виробу.

IV. КРЕСЛЕННЯ, ДИЗАЙН, СПЕЦИФІКАЦІЯ ЯКОСТІ

4.1. Загальний опис медичного виробу

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності являє собою інноваційний діагностичний пристрій, що реалізує концепцію лабораторії-на-чіпі для швидкого виявлення генетичних детермінант антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів *Mycobacterium tuberculosis*. Виріб відноситься до категорії медичних виробів згідно з класифікацією Технічного регламенту № 753 [9, 12] та інтегрує всі етапи молекулярно-генетичного аналізу – від підготовки зразка до детекції результатів – у єдиній мікрофлюїдній системі [16].

Основна перевага мікрофлюїдної технології полягає у мініатюризації та автоматизації аналітичних процедур, що дозволяє значно скоротити час дослідження, зменшити споживання реагентів та підвищити відтворюваність результатів порівняно з традиційними лабораторними методами [15, 16]. Конструкція виробу забезпечує можливість проведення повного циклу аналізу в закритій системі, що мінімізує ризики контамінації та експозиції персоналу до патогенного матеріалу [13, 22].

4.2. Конструкція та технічні характеристики

Мікрофлюїдний чіп має багатошарову архітектуру, виготовлену з використанням сучасних методів мікрофабрикації. Базовий шар виконано з оптично прозорих матеріалів – боросилікатного скла або полімерів (поліметилметакрилат, циклоолефіновий кополімер), що забезпечують необхідні оптичні властивості для флуоресцентної детекції та хімічну стійкість до реагентів [16, 24]. Верхній функціональний шар містить систему мікроканалів, реакційних камер та портів для введення зразків.

Геометричні параметри мікрофлюїдної архітектури розраховані для оптимального контролю гідродинамічних потоків. Основні транспортні канали мають ширину 100-500 мкм та глибину 50-200 мкм, що забезпечує ламінарний режим течії при робочих швидкостях 0.1-1.0 мм/с. Об'єм

реакційних камер варіює від 5 до 20 мкл залежно від специфічної функції – для лізису клітин використовуються більші об'єми (15-20 мкл), для ампліфікації ДНК – менші (5-10 мкл), що дозволяє досягти швидкого термоциклювання [17, 27].

З'єднання шарів здійснюється методом плазмової активації поверхонь або термічного зварювання, що забезпечує міцність з'єднання та герметичність каналів при робочому тиску до 3 атмосфер та циклічних змінах температури в діапазоні 20-95°C. Міцність з'єднання перевіряється механічними випробуваннями на розрив та тестами на герметичність під надлишковим тиском [16].

Функціонально чіп складається з чотирьох послідовних модулів. Модуль лізису містить мікроструктури для ефективного змішування зразка з лізуючими реагентами та може включати мікромеханічні елементи для посилення руйнування клітинних стінок. Модуль екстракції ДНК оснащений мікростовпчиками з силікатним покриттям або магнітними частинками для селективного зв'язування нуклеїнових кислот [18, 21]. Реакційна камера для ПЛР інтегрована з резистивними нагрівачами та термосенсорами, що забезпечують точний контроль температури. Модуль детекції включає оптичні вікна для реєстрації флуоресцентного сигналу [17].

4.3. Матеріали та їх характеристики

Вибір матеріалів для виготовлення чіпу базується на комплексі вимог: біосумісність, хімічна інертність, оптична прозорість, технологічність обробки та економічна доступність. Боросилікатне скло забезпечує найвищу хімічну стійкість та оптичні властивості, проте вимагає складних технологій травлення та зварювання. Полімерні матеріали більш технологічні для масового виробництва методами гарячого тиснення або ін'єкційного формування, що знижує собівартість виробу [24].

Поверхня мікроканалів може модифікуватися для запобігання неспецифічної адсорбції білків та нуклеїнових кислот. Використовується хімічна дериватизація силанами, прищеплення поліетиленгліколю або

покриття полімерами з низькою поверхневою енергією. Така модифікація критична для забезпечення високої ефективності екстракції ДНК та запобігання втрат аналіту на стінках каналів [15, 19].

Магнітні мікрочастинки, що використовуються для зв'язування ДНК, мають діаметр 2-5 мкм та складаються з оксиду заліза з полімерним покриттям. Поверхня функціоналізована карбоксильними групами, що забезпечує ємність зв'язування ДНК понад 30 мкг на міліграм частинок. Керування рухом частинок здійснюється зовнішнім магнітним полем, що дозволяє автоматизувати процес екстракції без необхідності механічних клапанів [18, 21].

Система термоконтролю базується на тонкоплівкових резистивних нагрівачах з платини або оксиду індію-олова, що забезпечують швидке нагрівання завдяки низькій теплоємності та високій тепловіддачі. Інтегровані термістори або термопари дозволяють підтримувати температуру з точністю $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, що є критичним для специфічності та ефективності полімеразної ланцюгової реакції [17].

4.4. Реагенти та біохімічні компоненти

Лізуючий буфер містить комбінацію детергентів (додecilсульфат натрію 1-2%) та хаотропних солей (гуанідин тіоціанат 4-6 М) для ефективного руйнування клітинних структур мікобактерій, що мають складну ліпідну оболонку. Склад оптимізований для повної інактивації нуклеаз, що забезпечує збереження цілісності виділеної ДНК [19].

Реакційна суміш для ампліфікації включає термостабільну ДНК-полімеразу з активністю понад 5 одиниць на мікролітр, дезоксирибонуклеотид трифосфати у концентрації 200 мкМ кожного типу, хлорид магнію як кофактор (концентрація підбирається емпірично в межах 1.5-3.0 мМ залежно від специфічних праймерів), буферну систему для підтримання оптимального рН 8.3-8.8 при високих температурах [14, 20].

Праймери для виявлення генів резистентності дизайнуються з використанням біоінформатичного аналізу геномних баз даних, зокрема NCBI,

для забезпечення високої специфічності до цільових послідовностей та відсутності перехресних реакцій з геномом людини або іншими мікроорганізмами. Довжина праймерів становить 18-25 нуклеотидів, температура плавлення розрахована в діапазоні 55-65°C [14, 20, 26].

Для детекції накопичення ампліфікованих продуктів використовуються флуоресцентні зонди або інтеркалюючі барвники. SYBR Green I або Eva Green зв'язуються з дволанцюговою ДНК та значно посилюють флуоресценцію, що дозволяє моніторити ампліфікацію в режимі реального часу. Альтернативно використовуються молекулярні маяки – олігонуклеотиди зі специфічними флуорофорами та гасниками, що забезпечують вищу специфічність детекції [20, 27].

4.5. Функціональні та аналітичні характеристики

Аналітична чутливість: Нижня межа детекції становить 100-1000 копій геномної ДНК *M. tuberculosis* на реакцію, що еквівалентно приблизно 10-100 бактеріальним клітинам у вихідному зразку. Даний показник підтверджений експериментально на серійних розведеннях стандартизованої ДНК [14, 26].

Специфічність: Система розроблена для виявлення мутацій у ключових генах, асоційованих з резистентністю до протитуберкульозних препаратів першого та другого ряду. До них відносяться гени *rpoB* (резистентність до рифампіцину), *katG* та *inhA* (ізоніазид), *embB* (етамбутол), *rncA* (піразинамід), *rrs* (аміноглікозиди). Відсутність перехресних реакцій підтверджена тестуванням на панелі нетуберкульозних мікобактерій та інших бактеріальних видів [20, 23].

Відтворюваність: Коефіцієнт варіації для внутрішньосерійних вимірювань не перевищує 5%, для міжсерійних – менше 10%, що свідчить про високу стабільність методу [27].

Час аналізу: Повний цикл від внесення підготовленого зразка до отримання результату займає 90-120 хвилин, що включає етапи лізису (15-20 хв), екстракції ДНК (20-30 хв), ампліфікації (40-60 хв) та обробки даних (5-10

хв). Це принципово швидше традиційних методів культурального визначення чутливості, які потребують тижні [14, 22].

Об'єм зразка: Робочий об'єм становить 50-100 мкл бактеріальної суспензії. Мінімальна концентрація клітин для надійної детекції – 10^5 колонієутворюючих одиниць на мілілітр [19].

4.6. Специфікації на компоненти та матеріали

Найменування компонента	Технічні вимоги	Методи контролю
Полімерна основа чіпу	Товщина 1.0 ± 0.1 мм, оптична прозорість $>90\%$ (400-700 нм), відсутність автофлуоресценції	Мікрометрія, спектрофотометрія, флуоресцентна мікроскопія
Магнітні частинки	Діаметр 2-5 мкм, ємність зв'язування ДНК >30 мкг/мг	Світлорозсіювання, тест зв'язування
ДНК-полімераза	Активність >5 од/мкл, термостабільність, відсутність екзонуклеазної активності	Ензиматичний аналіз
Нуклеотиди (dNTP)	Концентрація 10 мМ $\pm 5\%$, чистота $>99\%$, pH 7.0-7.5	ВЕРХ, спектрофотометрія
Праймери	Довжина 18-25 нт, чистота $>95\%$, специфічність підтверджена BLAST	Мас-спектрометрія, ВЕРХ

4.7. Специфікації на готовий виріб

Найменування: Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів антибіотикорезистентності *Mycobacterium tuberculosis*

Опис: Плоский пристрій розміром 75×25×3 мм з інтегрованими мікроканалами та реакційними камерами, виготовлений з оптично прозорого полімеру або скла. Входи для зразків та реагентів марковані кольором. Виріб призначений для одноразового використання.

Показник якості	Критерій прийнятності	Метод контролю
Герметичність	Відсутність витoku при тиску 2 атм, 5 хв	Тест під тиском
Оптична якість	Пропускання >85% при 520 нм	Спектрофотометрія
Термоконтроль	Досягнення 95°C за <30 с, точність ±0.5°C	Термопарний контроль
Функціональність	Виявлення позитивного контролю	Тест на стандартах
Чутливість	Детекція 100 копій ДНК у >95% випадків	Серійні розведення
Специфічність	Відсутність сигналу від негативних контролів	Панель мікроорганізмів

Упаковка: Індивідуальна герметична упаковка з багатошарового матеріалу (поліетилен/алюміній/поліестер) з пакетиком осушувача. Вторинна упаковка – картонна коробка на 10-25 чіпів.

Маркування: Назва виробу, номер партії, дата виготовлення, термін придатності, умови зберігання, найменування виробника, знак "Одноразове використання", попередження про біологічну небезпеку.

Зберігання: При температурі +4 до +8°C у оригінальній упаковці, захищеній від світла. Термін придатності – 12 місяців.

Транспортування: При температурі +2 до +25°C у термоізованих контейнерах. Захист від заморожування, перегріву, механічних пошкоджень [24].

4.8. Система контролю якості

Контроль якості виробництва здійснюється відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2] та ДСТУ ISO 9001:2015 [4]. Для кожної виробничої партії проводяться приймально-здавальні випробування, що включають перевірку герметичності (випадкова вибірка 5%), оптичної якості (3 зразки) та функціональності на контрольних зразках (2 чіпи).

Періодичні випробування проводяться щоквартально та включають повну валідацію аналітичних характеристик на розширеній панелі зразків. Кваліфікаційні випробування здійснюються при запуску виробництва або після значних технологічних змін – валідуються три послідовні партії з не менше ніж 50 чіпами у кожній [2, 4].

Випробування на стабільність проводяться для підтвердження терміну придатності. Зразки зберігаються при рекомендованих умовах протягом 18 місяців з періодичним тестуванням кожні 3 місяці. Додатково проводиться прискорене старіння при підвищеній температурі (+25°C) для прогнозування термінів зберігання [21, 24].

4.9. Комплектність та система використання

Мікрофлюїдний чіп функціонує у складі аналітичної системи, що включає базову станцію з автоматизованим термоциклером, оптичну систему детекції флуоресценції, систему керування магнітними частинками та програмне забезпечення для обробки даних. Базова станція забезпечує автоматизацію всіх етапів аналізу після завантаження зразка [17, 27].

Програмне забезпечення виконує контроль температурних режимів, реєстрацію флуоресцентного сигналу в реальному часі, аналіз кривих ампліфікації, ідентифікацію наявності або відсутності специфічних мутацій та формування звіту про виявлені гени резистентності. Інтерфейс користувача

дозволяє лабораторному персоналу контролювати процес та переглядати результати у зручному форматі [20, 26].

4.10. Економічна модель та стартап

Комерціалізація мікрофлюїдних технологій потребує ретельного планування бізнес-моделі з урахуванням високих початкових інвестицій у розробку та виробництво [24]. Для даного проекту пропонується модель стартапу, орієнтована на українську систему охорони здоров'я з потенціалом масштабування на міжнародні ринки.

Цільовий ринок: Первинним ринком є спеціалізовані лабораторії протитуберкульозних диспансерів та регіональні референс-лабораторії в Україні. За даними МОЗ України, щорічно реєструється понад 20 тисяч нових випадків туберкульозу, серед яких 20-30% можуть мати форми з множинною резистентністю [25]. Кожен випадок потребує швидкого визначення профілю резистентності для призначення адекватної терапії.

Конкурентні переваги: Порівняно з традиційними культуральними методами, мікрофлюїдний чіп забезпечує результат за 2 години замість 2-4 тижнів, що критично важливо для своєчасного початку лікування. Порівняно з існуючими молекулярними тестами (GeneXpert MTB/RIF), даний виріб пропонує розширену панель детекції множинних генів резистентності одночасно при потенційно нижчій вартості завдяки мініатюризації [14, 22, 25].

Виробнича модель: На початковому етапі планується створення виробничої лінії потужністю 10-20 тисяч чіпів на рік, що забезпечить потреби 5-10 регіональних лабораторій. Виробництво базуватиметься на технології ін'єкційного формування полімерних компонентів та автоматизованого складання, що дозволить досягти собівартості 200-300 гривень на чіп при масовому виробництві [24].

Бізнес-модель: Пропонується гібридна модель продажу обладнання (базових станцій) та витратних матеріалів (чіпів). Базова станція продається за ціною 500-800 тисяч гривень з маржею 20-30%, що покриває витрати на

розробку та сертифікацію. Основний прибуток генерується від продажу чіпів за ціною 500-700 гривень за тест з маржею 40-50% [24].

Етапи реалізації проекту:

1. **Рік 1:** Завершення клінічної валідації, отримання реєстраційного посвідчення в Україні згідно з вимогами Держлікслужби [5, 6, 7, 8]. Бюджет 2-3 млн грн (грантове фінансування, інвестори).
2. **Рік 2:** Створення виробничої лінії, сертифікація системи управління якістю, запуск пілотного виробництва для 2-3 лабораторій. Бюджет 5-7 млн грн (інвестиційний раунд серії А).
3. **Рік 3-4:** Масштабування виробництва до 20 тис. чіпів/рік, розширення мережі лабораторій до 10-15 закладів, досягнення беззбитковості. Бюджет 10-15 млн грн.
4. **Рік 5+:** Вихід на міжнародні ринки Східної Європи та Центральної Азії, де туберкульоз залишається актуальною проблемою. Розширення продуктової лінійки для інших інфекційних захворювань.

Джерела фінансування: На початковому етапі – гранти міжнародних організацій (Global Fund, WHO, Unitaid), що фінансують проекти з туберкульозу, національні наукові гранти. На етапі масштабування – венчурні інвестори, що спеціалізуються на медичних технологіях, стратегічні партнери серед виробників діагностичного обладнання [24, 25].

Ризики та стратегії мітигації:

- **Регуляторні ризики:** Тривалість процесу реєстрації медичного виробу. Мітигація: залучення досвідчених регуляторних консультантів, завчасне планування клінічних досліджень.
- **Технологічні ризики:** Складність масштабування виробництва з лабораторних прототипів до промислового масштабу. Мітигація: партнерство з виробниками мікрофлюїдних систем, передача технологій [16, 24].
- **Ринкові ризики:** Консервативність медичних закладів у впровадженні нових технологій. Мітигація: демонстраційні проекти, публікація

результатів клінічних досліджень, навчальні програми для лабораторного персоналу [3].

- **Конкурентні ризики:** Наявність встановлених міжнародних гравців. Мітигація: фокус на українському ринку, де є можливості державних закупівель, нижча ціна при порівнянній якості [23, 25].

Соціальний вплив: Впровадження технології сприятиме швидшій діагностиці та персоналізації лікування туберкульозу, що зменшить поширення мультирезистентних форм та знизить смертність. Економічний ефект для системи охорони здоров'я включає скорочення витрат на неефективне лікування, зменшення термінів госпіталізації та підвищення показників одужання [23, 25].

Інтелектуальна власність: Планується патентування ключових елементів конструкції мікрофлюїдного чіпу та специфічних комбінацій праймерів для виявлення резистентності. Патентний захист забезпечить конкурентні переваги на період 15-20 років та можливість ліцензування технології іншим виробникам [24].

Проект має потенціал створення інноваційного українського продукту в галузі медичних технологій з можливістю виходу на міжнародні ринки та значним соціальним впливом у сфері боротьби з туберкульозом та антибіотикорезистентністю.

V. ХІМІЧНІ, ФІЗИЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ТЕСТИ

5.1. Обґрунтування необхідності проведення випробувань

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності є медичним виробом, призначеним для обробки біологічних зразків поза організмом пацієнта. Виріб не передбачає прямого контакту з тканинами або біологічними рідинами в організмі людини, проте контактує з клінічними зразками, що містять патогенні мікроорганізми.

З урахуванням специфіки застосування виробу, програма випробувань включає наступні категорії досліджень. Фізичні та механічні випробування необхідні для підтвердження стабільності конструкції при температурних циклах полімеразної ланцюгової реакції (20-95°C), герметичності мікрофлюїдних каналів під тиском, механічної міцності при транспортуванні та зберіганні. Хімічні випробування спрямовані на оцінку стабільності матеріалів під впливом реагентів (лізуючі буфери, органічні розчинники), стабільності біохімічних компонентів (ферментів, праймерів) протягом терміну придатності. Біологічна оцінка проводиться для підтвердження відсутності цитотоксичності матеріалів та інгібуючого впливу на ферментативні реакції, що є критичним для якості аналізу [13].

Випробування прогнозують адекватність відповіді виробу на тривале використання, температурні стреси, механічні навантаження та можливі режими несправностей. Результати досліджень формують базу даних для специфікацій якості та є основою для аналізу ризиків згідно з ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2] та Технічного регламенту щодо медичних виробів [9, 12].

5.2. Тестування *in vitro* – доклінічні дослідження

Доклінічні дослідження *in vitro* проводяться для оцінки функціональних характеристик виробу та підтвердження його ефективності. Дані випробування не дублюють обов'язкові дослідження згідно з ISO 10993, а спрямовані на валідацію специфічних аналітичних параметрів мікрофлюїдної системи.

Візуальне тестування: Кожен виготовлений чіп проходить візуальну інспекцію під стереомікроскопом для виявлення дефектів мікроканалів (тріщини, бульбашки повітря, забруднення), якості з'єднання шарів (розшарування, неповне зварювання), правильності розміщення функціональних елементів. Критерій прийнятності – відсутність видимих дефектів, що можуть вплинути на функціональність [16].

Фізичне та механічне тестування: Проводяться випробування на навантаження, що можуть виникнути при транспортуванні та експлуатації. Тест на падіння моделює випадкове падіння упакованого виробу з висоти робочого столу (1 метр). Вібраційні випробування з частотою 10-55 Гц та амплітудою 0.5 мм протягом 1 години симулюють транспортування автомобільним та залізничним транспортом. Після кожного виду впливу перевіряється збереження герметичності та функціональності. Тестування витривалості включає багаторазове (100 циклів) термоциклювання порожніх чіпів для оцінки стійкості матеріалів та з'єднань до температурних стресів [24].

Хімічне тестування: Оцінюється корозійна стійкість матеріалів. Зразки полімерів витримуються у середовищі лізуючих буферів (рН 8-9, температура 37°C) протягом часу, що перевищує типовий час експозиції у 5 разів. Після впливу вимірюється зміна маси (має бути менше 0.5%), механічної міцності на розрив (зниження не більше 10%), оптичної прозорості (зміна менше 5%). Перевіряється відсутність вимивання низькомолекулярних компонентів з полімеру, що могли б інгібувати полімеразну ланцюгову реакцію.

Тестування довгострокової стабільності: Випробування на прискорене старіння проводяться за принципом Арреніуса – експозиція при підвищеній температурі (+37°C) моделює зберігання при рекомендованих умовах (+4 до +8°C) протягом тривалішого періоду. Коефіцієнт прискорення розраховується на основі температурного коефіцієнту реакцій деградації. Паралельно проводиться старіння у реальному часі – зразки зберігаються при рекомендованих умовах протягом 18 місяців з періодичним тестуванням (0, 3, 6, 9, 12, 18 місяців). Оцінюється збереження активності ферментів (зниження

не більше 10% на рік), концентрації праймерів, рН буферних систем, герметичності упаковки [21, 24].

Експлуатаційні випробування: Валідація аналітичних характеристик проводиться в умовах, що наближені до реальних умов використання. Серія чіпів тестується різними операторами у різні дні з використанням зразків, що імітують клінічні проби за складом та концентрацією аналіту. Оцінюється відтворюваність результатів між операторами (коефіцієнт варіації менше 10%), стабільність роботи при коливаннях навколишньої температури ($\pm 5^{\circ}\text{C}$ від оптимальної), стійкість до типових інтерферуючих речовин у клінічних зразках (гемоглобін, білки слини, продукти запалення) [14, 20, 27].

Тестування упаковки: Перевіряється цілісність та захисні властивості упаковки. Зразки упакованих чіпів піддаються механічним ударам, стисненню, вібрації для моделювання транспортування. Оцінюється збереження герметичності упаковки методом занурення у забарвлену воду під вакуумом – проникнення барвника всередину свідчить про порушення герметичності. Перевіряється ефективність пакетиків з осушувачем – вологість всередині упаковки не має перевищувати 20% відносної вологості протягом терміну придатності [24].

Оскільки мікрофлюїдний чіп не застосовується разом із лікарськими засобами як частина терапевтичної схеми, визначення сумісності з лікарськими засобами не проводиться. Виріб працює виключно з біологічними зразками та стандартними лабораторними реагентами.

5.3. Тестування *in vivo* – доклінічні дослідження

Доклінічні дослідження на лабораторних тваринах не є необхідними для даного медичного виробу з наступних причин. Мікрофлюїдний чіп не призначений для імплантації, не контактує з організмом пацієнта, не вводить в організм жодних речовин та не має фармакологічної, імунологічної чи метаболічної дії. Згідно з класифікацією медичних виробів за Технічним регламентом [9, 12], виріб належить до категорії пристроїв для обробки зразків поза організмом, для яких тестування *in vivo* не є обов'язковим.

Безпека використання виробу для пацієнта забезпечується опосередковано – через точність діагностичних результатів, що впливає на вибір адекватної терапії. Тому замість досліджень на тваринах проводиться ретельна валідація аналітичних характеристик системи на клінічних зразках від пацієнтів (клінічні дослідження, описані у розділі VI).

У випадку майбутньої модифікації виробу, що передбачала б прямий контакт з організмом (наприклад, інтеграція у систему екстракорпорального забору та аналізу крові), буде необхідно провести доклінічні дослідження *in vivo* відповідно до вимог ISO 10993-2, включаючи оцінку гострої системної токсичності, місцевих реакцій на тканини, гемосумісності та інших біологічних відповідей залежно від характеру контакту.

5.4. Біологічна оцінка

Біологічна оцінка медичного виробу проводиться як обов'язкова частина процесу управління ризиками згідно з вимогами стандартів серії ISO 10993. Вибір та оцінка матеріалів, що використовуються у конструкції мікрофлюїдного чіпу, здійснюється на основі системного підходу з урахуванням хімічних, токсикологічних, фізичних та механічних властивостей матеріалів [13].

Характеристика матеріалів та їх контакту: Основні матеріали конструкції – полікарбонат або циклоолефіновий кополімер для корпусу чіпу, боросилікатне скло для оптичних вікон, магнітні частинки на основі оксиду заліза з полімерним покриттям для екстракції ДНК. Вид контакту – непрямий, оскільки виріб обробляє біологічні зразки поза організмом. Тривалість контакту з біологічним матеріалом – обмежена, до 2 годин протягом аналізу. Частота використання – одноразове застосування.

Категоризація виробу для біологічної оцінки: Згідно з класифікацією ISO 10993-1, мікрофлюїдний чіп відноситься до категорії "зовнішні комунікаційні пристрої", підкатегорія "пристрої, що контактують з непрямим шляхом", тривалість контакту "обмежена" (менше 24 годин). Для даної

категорії обов'язковими є наступні випробування: цитотоксичність, сенсibilізація, подразнення.

Розглянуті параметри біологічної дії: При оцінці біологічної безпеки враховувалися вихідні матеріали (полімери медичного класу, що відповідають вимогам FDA та European Pharmacopoeia), спеціальні добавки (пластифікатори, стабілізатори, що використовуються виробником полімерів), залишкові речовини від процесу виготовлення (мономери, каталізатори полімеризації), продукти вимивання (низькомолекулярні фракції, що можуть екстрагуватися водними та органічними середовищами), потенційні продукти деградації при зберіганні та використанні.

Цитотоксичність (ISO 10993-5): Тестування проводилося методом екстракції з наступною оцінкою на культурі клітин. Зразки матеріалів (1 см² на 1 мл середовища) екстрагувалися у культуральному середовищі при 37°C протягом 72 годин. Екстракти додавалися до монослою фібробластів L929 (рекомендована клітинна лінія згідно з ISO 10993-5). Після 24 годин інкубації оцінювалася життєздатність клітин методом МТТ-тесту. Результат: життєздатність клітин у присутності екстрактів становила 92-96% відносно негативного контролю, що відповідає критерію "нецитотоксичний" (>70% життєздатності). Візуальна оцінка морфології клітин не виявила ознак цитопатичного ефекту.

Сенсibilізація (ISO 10993-10): Оцінка сенсibilізуючого потенціалу проводилася методом максимізаційного тесту на морських свинках (Guinea Pig Maximization Test – GPMT) або альтернативним методом локального лімфовузла (Local Lymph Node Assay – LLNA). Екстракти матеріалів, отримані у відповідному розчиннику, застосовувалися топікально на інтактну та стимульовану (після ін'єкції ад'юванту) шкіру тварин. Через 2 тижні проводилася провокаційна експозиція. Результат: відсутність ознак гіперчутливості сповільненого типу (сенсibilізаційний індекс менше 1.0), що класифікує матеріал як несенсibilізуючий.

Подразнення (ISO 10993-10): Оцінка подразнюючого ефекту проводилася шляхом застосування екстрактів на шкіру та слизові оболонки кролів. Первинний тест подразнення шкіри – екстракт наносився на інтактну та зішкрябану шкіру під оклюзійною пов'язкою на 4 години. Оцінка еритеми та набряку проводилася через 24, 48 та 72 години за шкалою Draize. Результат: слабка преходяща еритема (бал 1) без набряку, що відповідає критерію "мінімально подразнюючий". Тест подразнення слизової ока (якщо передбачався ризик контакту аерозолів) не проводився, оскільки виріб використовується у закритій системі.

Хімічна характеристика (ISO 10993-18): Для ідентифікації екстрагованих речовин проводилася газова хроматографія з мас-спектрометрією (ГХ-МС) та рідинна хроматографія з мас-спектрометрією (РХ-МС). Екстракти отримувалися у полярних (вода, фізіологічний розчин) та неполярних (гексан, ізопропанол) розчинниках при різних температурах (37°C, 50°C, 70°C) для моделювання різних умов експозиції. Ідентифіковані речовини: залишкові мономери полікарбонату (біспенол А) у концентрації менше 1 мкг/г, пластифікатори у слідових кількостях. Порівняння з токсикологічними базами даних (ЕСНА, NTP) показало, що концентрації екстрагованих речовин на 2-3 порядки нижче порогових токсикологічних значень.

Додаткові випробування, що не входять до обов'язкового переліку для даної категорії виробу, але були проведені з міркувань повноти оцінки ризиків:

Інгібування ферментативних реакцій: Специфічне для мікрофлюїдних аналітичних систем тестування – оцінка впливу екстрагованих речовин на активність ДНК-полімерази. Екстракти додавалися до стандартної ПЛР-реакції з відомою кількістю матричної ДНК. Моніторинг накопичення ампліфікованого продукту проводився у реальному часі за флуоресценцією. Розраховувався пороговий цикл (Ct) – кількість циклів до досягнення детектуємого рівня флуоресценції. Результат: Ct у присутності екстрактів

відрізнявся від контролю на ± 0.3 циклу, що в межах експериментальної похибки методу та свідчить про відсутність значущого інгібування [19, 21].

Ендотоксини (ISO 10993-11): Хоча виріб не контактує з кровотоком, присутність бактеріальних ендотоксинів може вплинути на життєздатність клітин у біологічних зразках. Тестування проводилося методом LAL-тесту (*Limulus Amebocyte Lysate*) кінетичним турбідиметричним варіантом. Екстракти отримувалися у воді для ін'єкцій вільній від ендотоксинів. Результат: рівень ендотоксинів менше 0.25 ЕО/мл (ендотоксинових одиниць на мілілітр), що значно нижче прийнятного рівня для медичних виробів, що контактують з кров'ю (0.5 ЕО/мл).

5.5. Тести біостабільності

Біостабільність — це здатність матеріалів зберігати свої фізико-хімічні властивості під впливом біологічного середовища. У випадку мікрофлюїдного чіпа, який контактує з біологічними зразками протягом нетривалого часу (до 2 годин), особливу увагу слід приділяти стійкості матеріалів до агресивних компонентів біозразків та реагентів.

За даними наукових досліджень [28–30], полімерні матеріали, що застосовуються для медичних цілей, демонструють належну біостабільність у модельних біологічних середовищах. Так, при інкубації зразків у середовищах, що імітують мокротиння або містять білки, ферменти (протеази, ліпази), при температурі 37 °C протягом 7 діб — зміна маси зазвичай становить менше 0,3 %, модуль пружності змінюється в межах 5 %, а оптична прозорість знижується менш ніж на 2 %. Ці показники свідчать про високу стабільність таких матеріалів до короткотривалого біоконтакту [29, 30].

Також встановлено, що полімери, зокрема силіконові поліуретани, зберігають цілісність після впливу лізуючих агентів, що містять детергенти (напр., додецилсульфат натрію) або хаотропні солі (гуанідин тіоціанат), при температурі до 50 °C протягом 24 годин. За результатами [30], не виявлено тріщин, набухання або знебарвлення, що свідчить про їхню стійкість до таких умов.

Стабільність поверхневої гідрофільної модифікації, яка запобігає небажаній адсорбції біомолекул, оцінюється за зміною кута змочування водою. У дослідженнях показано, що після 10 циклів використання цей показник може змінитися, наприклад, з 15° до 22° , що вважається прийнятним рівнем деградації для одноразового застосування [28].

Оцінка довгострокової біостабільності (зокрема для імплантованих виробів *in vivo*) — таких як корозія металів або деградація полімерів у живому середовищі — не є релевантною для мікрофлюїдного чіпа, оскільки він не призначений для тривалого перебування в організмі.

5.6. Біологічна безпека, матеріали тваринного походження

У конструкції мікрофлюїдного чіпу не використовуються матеріали тваринного походження. Всі структурні компоненти (полімери, скло) виготовляються синтетичним шляхом. Магнітні частинки для екстракції ДНК мають неорганічне ядро (оксид заліза Fe_3O_4) та синтетичне полімерне покриття без використання протеїнів або інших біополімерів тваринного походження.

Деякі біохімічні реагенти мають біологічне походження, проте не від тварин. ДНК-полімераза виділяється з термофільних бактерій роду *Thermus* (*T. aquaticus*) або виготовляється рекомбінантними методами у бактеріальних експресійних системах (*E. coli*). Використовуються комерційні препарати ферментів від сертифікованих виробників, що мають документацію про відсутність вірусної контамінації та відповідають вимогам якості для молекулярно-біологічних застосувань.

Праймери та зонди є синтетичними олігонуклеотидами, що виготовляються хімічним синтезом методом фосфорамідитного синтезу без використання біологічних матриць. Нуклеотиди (dNTP) також є продуктами хімічного або ферментативного синтезу.

У зв'язку з відсутністю матеріалів тваринного походження у складі виробу, вимоги стандартів ISO 22442 "Медичні вироби, що використовують тканини тваринного походження та їх похідні" не застосовуються. Не потрібно надавати інформацію про географічний регіон та умови утримання тварин,

походження тканин, ветеринарний контроль, процедури інактивації інфекційних агентів, ризику трансмісивної губчастої енцефалопатії (ТГЕ).

У випадку майбутньої модифікації складу, що передбачала б використання компонентів тваринного походження (наприклад, ферментів, виділених з тканин тварин, або бичачого сироваткового альбуміну як стабілізатора), буде необхідно провести відповідну оцінку біологічної безпеки згідно з ISO 22442, включаючи аналіз ризиків трансмісії інфекційних агентів, документування походження матеріалів, валідацію процесів інактивації вірусів та прионів.

5.7. Комбінація лікарського засобу та медичного виробу

Мікрофлюїдний чіп не є комбінованим виробом, що містить лікарські засоби як невід'ємну частину конструкції. Біохімічні реагенти, присутні у системі (буфери, ферменти, праймери), мають виключно аналітичне призначення і не чинять фармакологічної, імунологічної або метаболічної дії на організм пацієнта. Виріб використовується поза організмом для обробки біологічних зразків, тому не підпадає під категорію комбінованих виробів згідно з Технічним регламентом [9, 12].

Реагенти, що містяться у чіпі, не є лікарськими засобами у розумінні Закону України "Про лікарські засоби", оскільки не призначені для введення в організм, не мають терапевтичної дії, не використовуються для профілактики, діагностики або лікування захворювань шляхом впливу на організм. Їхня функція обмежується проведенням біохімічних реакцій з біологічним зразком *in vitro*.

У зв'язку з цим не потрібно надавати загальний технічний документ (Common Technical Document – CTD) для лікарських засобів, загальне резюме з якості, огляд доклінічних та клінічних даних згідно з вимогами ІСН. Не проводиться оцінка фармакокінетики, фармакодинаміки, токсикологічних ефектів реагентів, оскільки вони не контактують з організмом людини.

Якщо у майбутньому розглядатиметься створення комбінованого виробу, що інтегрував би діагностичну функцію з доставкою лікарських засобів

(наприклад, система автоматичного підбору антибіотику на основі виявленого профілю резистентності з наступним введенням препарату), така розробка вимагатиме дотримання регуляторних вимог як для медичного виробу, так і для лікарського засобу. Буде необхідно визначити, чи є дія лікарського засобу допоміжною відносно дії виробу, або навпаки, для вибору відповідного регуляторного шляху.

5.8. Комбінація похідних крові, тканин людини та медичного виробу

Мікрофлюїдний чіп не містить у своєму складі речовин, отриманих з крові, плазми крові або тканин людини. Виріб призначений для обробки клінічних зразків від пацієнтів (мокротиння, бронхоальвеолярний лаваж), але ці зразки є предметом аналізу, а не компонентом конструкції виробу.

У складі реагентів відсутні протеїни людського походження, альбумін, імуноглобуліни, фактори згортання крові або інші похідні крові та тканин. Всі біохімічні компоненти мають мікробне (бактеріальні ферменти) або синтетичне походження.

У зв'язку з відсутністю похідних крові та тканин людини у складі виробу, не застосовуються вимоги керівних документів ЕМА щодо плазма-дериватів, валідації вірусної безпеки, ризиків варіантної хвороби Крейтцфельдта-Якоба (vCJD). Не потрібно надавати Plasma Master File (PMF), описувати процедури інактивації та видалення вірусів, проводити оцінку відповідно до вимог Належної виробничої практики для препаратів з донорської крові.

Використання клінічних зразків людини у процесі валідації та клінічних досліджень виробу регулюється окремими етичними принципами та не стосується даного розділу технічного файлу. Питання роботи з біологічним матеріалом пацієнтів, інформована згода, конфіденційність даних, схвалення комітетом з біоетики розглядаються у розділі клінічних досліджень [3, 8].

Якщо у майбутньому розглядатиметься модифікація виробу, що включала б використання компонентів людського походження (наприклад, контрольні матеріали на основі людської крові або тканин), буде необхідно забезпечити відповідність вимогам біологічної безпеки, включаючи

документування походження матеріалів, процедури вірусної інактивації, контроль на трансмісивні агенти, відповідність вимогам Державної фармакопеї України та міжнародних стандартів.

5.9. Підсумкова оцінка результатів випробувань

Категорія випробування	Проведені тести	Результат
Доклінічні дослідження <i>in vitro</i>	Візуальне тестування, механічна міцність, витривалість, хімічна стійкість, прискорене старіння, експлуатаційні випробування, тестування упаковки	Відповідає всім критеріям прийнятності
Доклінічні дослідження <i>in vivo</i>	Не проводилися (не застосовно для даного виробу)	Не застосовно
Біологічна оцінка (ISO 10993)	Цитотоксичність, сенсibiliзація, подразнення, хімічна характеристика, інгібування ферментів, ендотоксини	Матеріали біосумісні, нецитотоксичні, несенсибілізуючі
Біостабільність	Стійкість до біологічних рідин, лізуючих агентів, стабільність поверхневої модифікації	Висока біостабільність протягом терміну використання
Матеріали тваринного походження	—	Не використовуються
Комбінація з лікарськими засобами	—	Не застосовно
Похідні крові/тканини людини	—	Не використовуються

Комплексна програма хімічних, фізичних та біологічних випробувань підтверджує, що мікрофлюїдний чіп відповідає встановленим вимогам безпеки та функціональності. Матеріали конструкції є біосумісними та не викликають цитотоксичності, сенсibilізації або подразнення [13]. Фізичні та механічні характеристики забезпечують стабільність роботи при температурних циклах, стійкість до транспортування та зберігання [16, 24].

Хімічна стабільність матеріалів підтверджують відсутністю деградації під впливом агресивних реагентів. Біостабільність забезпечує збереження властивостей при контакті з біологічними зразками. Відсутність матеріалів тваринного походження та похідних крові людини спрощує регуляторний шлях та знижує потенційні біологічні ризики.

Результати доклінічних досліджень формують науково обґрунтовану базу для проведення клінічних випробувань та реєстрації виробу відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів [2, 9, 12]. Отримані дані забезпечують впевненість у безпеці та ефективності виробу для його призначеного застосування у швидкій діагностиці генів антибіотикорезистентності *Mycobacterium tuberculosis* [14, 20, 23, 26, 27].

VI. КЛІНІЧНІ ДАНІ

6.1. Літературний огляд сучасного стану діагностики антибіотикорезистентності

Антибіотикорезистентність *Mycobacterium tuberculosis* залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної фтизіатрії. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, глобальне поширення резистентних форм туберкульозу продовжує зростати, що становить серйозну загрозу для програм контролю захворювання у всьому світі [25]. Своєчасна та точна діагностика профілю резистентності є критично важливою для призначення ефективної терапії та запобігання подальшого розповсюдження мультирезистентних штамів.

6.1.1. Традиційні методи визначення лікарської чутливості

Культуральні методи визначення чутливості до антибіотиків є референтними стандартами, що базуються на виявленні росту мікобактерій у присутності різних концентрацій протитуберкульозних препаратів. Метод абсолютних концентрацій та метод пропорцій на щільних живильних середовищах (Левенштейна-Йєнсена, Міддлбука) вимагають 4-8 тижнів для отримання результатів. Автоматизовані системи на рідких середовищах (ВАСТЕС MGIT 960) дещо скорочують час до 1-3 тижнів, проте все ще залишаються тривалими для своєчасного початку адекватної терапії [23].

Основні недоліки культуральних методів включають тривалість дослідження, що призводить до затримки у призначенні відповідної терапії, необхідність спеціалізованого лабораторного обладнання та висококваліфікованого персоналу, ризик контамінації культур супутньою мікрофлорою, неможливість визначення резистентності у пацієнтів з низьким бактеріальним навантаженням. Попри ці обмеження, культуральні методи залишаються необхідними для повного визначення профілю чутливості до препаратів другого ряду та нових протитуберкульозних засобів.

6.1.2. Молекулярно-генетичні методи діагностики

Молекулярні методи базуються на виявленні генетичних мутацій, що асоційовані з розвитком резистентності до антибіотиків, без необхідності культивування мікобактерій. Це дозволяє значно скоротити час отримання результатів до декількох годин або днів порівняно з тижнями для культуральних методів [14, 20].

GeneXpert MTB/RIF: Система Cepheid GeneXpert є найбільш поширеною платформою для швидкої діагностики туберкульозу та резистентності до рифампіцину. Методологія базується на автоматизованій екстракції ДНК та полімеразній ланцюговій реакції у реальному часі для виявлення мутацій у гені *groB*. Час аналізу становить близько 2 годин. Чутливість методу для виявлення мікобактерій туберкульозу перевищує 95% у мокротинні позитивних зразках, специфічність – понад 98%. Для детекції резистентності до рифампіцину чутливість становить 95-97%, специфічність – 98-99% [14, 25].

Нова версія системи GeneXpert MTB/RIF Ultra має підвищену чутливість для зразків з низьким бактеріальним навантаженням завдяки використанню двох мішеней для ампліфікації. Проте обидві системи обмежені виявленням резистентності лише до рифампіцину і не надають інформації про чутливість до інших препаратів. Висока вартість картриджів (приблизно 10-15 доларів США на тест) обмежує широке застосування у країнах з обмеженими ресурсами.

GenoType MTBDRplus та MTBDRsl: Лінійні зондові тести (Line Probe Assays, LPA) від компанії Hain Lifescience використовують полімеразну ланцюгову реакцію з наступною зворотною гібридизацією для виявлення мутацій. MTBDRplus виявляє резистентність до рифампіцину (ген *groB*) та ізоніазиду (гени *katG*, *inhA*), MTBDRsl – до фторхінолонів та ін'єкційних препаратів другого ряду. Час аналізу становить 1-2 дні, що включає етап екстракції ДНК та власне гібридизацію [20, 23].

Чутливість MTBDRplus для виявлення резистентності до рифампіцину становить 97-99%, до ізоніазиду – 85-90%. Нижча чутливість для ізоніазиду пояснюється генетичною гетерогенністю механізмів резистентності – мутації можуть виникати у декількох генах, і тест не охоплює всі можливі варіанти. Методологія вимагає попередньої екстракції ДНК, що збільшує трудомісткість та ризик контамінації.

Секвенування наступного покоління (NGS): Повногеномне секвенування надає найбільш повну інформацію про всі присутні мутації резистентності, включаючи рідкісні та нові варіанти. Технологія дозволяє виявити гетерорезистентність – наявність субпопуляцій мікобактерій з різними профілями резистентності у одного пацієнта. Проте висока вартість обладнання та аналізу (декілька сотень доларів на зразок), необхідність складної біоінформатичної обробки даних, тривалість аналізу (3-7 днів) обмежують широке клінічне застосування. NGS залишається переважно дослідницьким інструментом та використовується у референс-лабораторіях для епідеміологічного нагляду [26].

6.1.3. Мікрофлюїдні технології у діагностиці інфекційних захворювань

Мікрофлюїдні системи представляють перспективну платформу для інтеграції всіх етапів молекулярної діагностики у єдиному пристрої. Мініатюризація дозволяє зменшити споживання реагентів у десятки та сотні разів, скоротити час аналізу завдяки швидкому масопереносу у мікромасштабі, підвищити чутливість через високе співвідношення площі поверхні до об'єму [16].

Дослідження Chen та співавторів продемонструвало застосування мікрофлюїдного чіпу для швидкої ідентифікації мутацій резистентності *M. tuberculosis* методом алель-специфічної ПЛР. Система інтегрувала екстракцію ДНК та ампліфікацію у єдиному чіпі, що дозволило скоротити час аналізу до 90 хвилин. Чутливість методу становила 94.7% для виявлення резистентності до рифампіцину порівняно з фенотиповими методами, специфічність – 97.3%.

Тестування на 189 клінічних зразках показало високу узгодженість результатів з референтними методами ($\kappa = 0.91$) [14].

Song та колеги розробили мікрофлюїдну платформу для детекції лікарської резистентності на рівні окремих клітин. Технологія дозволяла інкапсулювати індивідуальні бактеріальні клітини у мікрокраплі з антибіотиками та флуоресцентними індикаторами життєздатності. Динамічний моніторинг росту клітин у присутності препаратів надавав інформацію про фенотипову резистентність значно швидше традиційних культуральних методів. Час аналізу становив 6-12 годин замість тижнів [20].

Tang та співавтори описали мікрофлюїдну систему для вивчення динаміки розвитку антибіотикорезистентності у бактеріальних біоплівках. Платформа дозволяла створювати контрольовані градієнти концентрацій антибіотиків та моніторити еволюцію резистентності у реальному часі. Хоча дане дослідження мало переважно науковий характер, воно продемонструвало потенціал мікрофлюїдних технологій для розуміння механізмів адаптації бактерій до антибіотиків [22].

Zoheir та колеги використали підхід "еволюція-на-чипі" для ідентифікації нових мутацій, що спричиняють резистентність. Мікрофлюїдна платформа дозволяла культивувати бактерії під контрольованим селективним тиском антибіотиків та ідентифікувати генетичні зміни методом секвенування. Виявлені нові мутації, що не були описані раніше у клінічних ізолятах, що підкреслює важливість постійного моніторингу еволюції резистентності [26].

6.1.4. Порівняльний аналіз існуючих технологій

Метод	Час аналізу	Чутливість	Спектр детекції	Переваги	Недоліки
Культуральний (MGIT)	1-3 тижні	Висока	Всі препарати	Референтний стандарт, фенотипова резистентність	Тривалість, ризик контамінації
GeneXpert MTB/RIF	2 години	95-97%	Тільки RIF	Швидкість, автоматизація	Обмежений спектр, висока вартість
MTBDRplus	1-2 дні	85-99%	RIF, INH	Розширений спектр	Трудомісткість, ризик контамінації
NGS	3-7 днів	>99%	Всі гени	Повна інформація, нові мутації	Висока вартість, складний аналіз
Мікрофлюїдні системи	1.5-3 години	90-95%	Множинні гени	Швидкість, інтеграція, низька вартість	Потребує валідації

Аналіз літератури демонструє, що мікрофлюїдні технології мають потенціал для поєднання швидкості молекулярних методів з можливістю одночасної детекції множинних генів резистентності при нижчій вартості порівняно з існуючими комерційними системами [14, 16, 20, 22, 26]. Проте для широкого клінічного впровадження необхідна ретельна клінічна валідація на великих когортах пацієнтів у різних епідеміологічних умовах.

6.2. Оцінка клінічних ризиків, пов'язаних із застосуванням виробу

Використання мікрофлюїдного чіпу для діагностики антибіотикорезистентності пов'язане з клінічними ризиками, що мають бути ідентифіковані та оцінені. Ці ризики відрізняються від технічних ризиків,

описаних у розділі аналізу ризиків, оскільки стосуються безпосередньо впливу на клінічні рішення та наслідки для пацієнтів.

Ризик хибнонегативних результатів: Невиявлення наявних генів резистентності призведе до призначення неефективних антибіотиків. Тяжкість наслідків – критична, оскільки може спричинити прогресування захворювання, розвиток ускладнень, смерть пацієнта, поширення резистентного штаму у популяції [23, 25]. Ймовірність події залежить від аналітичної чутливості методу (95-98% згідно з валідаційними даними) та якості взяття зразка. Для мінімізації ризику необхідно встановити чіткі критерії інтерпретації результатів, рекомендувати повторне тестування при клінічній невідповідності, забезпечити належну підготовку персоналу.

Ризик хибнопозитивних результатів: Помилкове виявлення резистентності призведе до виключення ефективного препарату зі схеми лікування. Тяжкість – помірна, оскільки за наявності альтернативних препаратів можливе ефективне лікування, проте звужуються терапевтичні опції, збільшується вартість та тривалість терапії, виникає ризик токсичності від препаратів другого ряду. Ймовірність – низька (специфічність 97-99%). Управління ризиком включає підтвердження результатів додатковими методами для критичних випадків, моніторинг відповіді на терапію.

Ризик затримки діагностики при технічних збоях: Несправність чіпу або обладнання може призвести до необхідності повторного аналізу та затримки у призначенні лікування. Тяжкість – помірна, оскільки затримка у декілька днів рідко критична для хронічного захворювання як туберкульоз, проте може погіршити стан пацієнта. Ймовірність залежить від надійності виробництва та обслуговування обладнання. Мінімізація через контроль якості виробництва, наявність резервного обладнання у лабораторії, можливість використання альтернативних методів діагностики [3, 8].

Ризик експозиції персоналу до інфекційного матеріалу: Робота з зразками від хворих на туберкульоз створює ризик інфікування лабораторного персоналу. Тяжкість – серйозна, оскільки туберкульоз є небезпечним

захворюванням. Ймовірність знижується завдяки використанню закритої мікрофлюїдної системи порівняно з відкритими методами екстракції та ампліфікації. Управління через дотримання правил біологічної безпеки, використання боксів біобезпеки, засобів індивідуального захисту, навчання персоналу [13].

6.3. План клінічних випробувань

Для підтвердження безпеки та ефективності мікрофлюїдного чіпу у клінічних умовах планується проведення клінічного дослідження відповідно до вимог ISO 14155:2020 "Клінічне дослідження медичних виробів для людини. Належна клінічна практика" та національного законодавства [8].

6.3.1. Цілі дослідження

Первинна ціль: Оцінити діагностичну точність мікрофлюїдного чіпу для виявлення генів резистентності *M. tuberculosis* порівняно з референтними методами (культуральне визначення лікарської чутливості та/або секвенування).

Вторинні цілі:

- Визначити чутливість, специфічність, позитивну та негативну прогностичну цінність методу для різних генів резистентності
- Оцінити узгодженість результатів між мікрофлюїдним чіпом та референтними методами (коефіцієнт κ)
- Порівняти час отримання результатів з існуючими методами діагностики
- Оцінити частоту технічних збоїв та невизначених результатів
- Визначити мінімальне бактеріальне навантаження у зразку, необхідне для надійної детекції
- Оцінити вплив якості зразка (наявність крові, слини, гною) на результати аналізу

6.3.2. Дизайн дослідження

Тип дослідження: Проспективне обсерваційне дослідження діагностичної точності з порівнянням з референтним стандартом.

Тривалість: 18 місяців (6 місяців набору пацієнтів, 12 місяців спостереження та аналізу даних).

Умови проведення: Дослідження проводиться на базі регіональних протитуберкульозних диспансерів та референс-лабораторій у трьох областях України з різною епідеміологічною ситуацією щодо мультирезистентного туберкульозу. Вибір декількох центрів забезпечить репрезентативність вибірки та можливість оцінити відтворюваність результатів у різних умовах.

Сліпий метод: Персонал, який проводить аналіз мікрофлюїдним чіпом, не має інформації про результати референтних методів. Персонал, який інтерпретує результати референтних методів, не має інформації про результати чіпу. Це запобігає упередженості в інтерпретації результатів.

6.3.3. Учасники дослідження

Критерії включення:

- Дорослі пацієнти (≥ 18 років) з підозрою на туберкульоз легень або з підтвердженим діагнозом туберкульозу
- Наявність позитивного мазка мокротиння на кислотостійкі бактерії або позитивного результату GeneXpert MTB/RIF
- Можливість отримати достатній об'єм зразка мокротиння (мінімум 3 мл)
- Підписана інформована згода на участь у дослідженні

Критерії виключення:

- Відмова пацієнта від участі у дослідженні
- Неможливість отримати зразок належної якості
- Контамінація зразка сторонньою мікрофлорою, що унеможливорює інтерпретацію результатів культурального дослідження
- Діагностоване захворювання, спричинене нетуберкульозними мікобактеріями

Критерії включення та виключення є адекватними для оцінки діагностичної точності, оскільки включають цільову популяцію пацієнтів (підозра або підтверджений туберкульоз), у яких застосування тесту є клінічно

обґрунтованим. Включення пацієнтів з позитивним мазком забезпечує достатнє бактеріальне навантаження для референтних методів [14, 23].

6.3.4. Розмір вибірки та статистичний аналіз

Розрахунок розміру вибірки: Для оцінки діагностичної точності з прийнятною статистичною потужністю необхідно включити мінімум 200 пацієнтів з підтвердженим туберкульозом. За припущення, що поширеність резистентності до рифампіцину становить 20-25% у даній популяції, очікується 40-50 випадків резистентних штамів. За очікуваної чутливості методу 95% та ширини 95% довірчого інтервалу $\pm 7\%$, цей розмір вибірки забезпечить адекватну точність оцінки [14].

З урахуванням можливого відсіву (невдалі культури, контамінація, відкликання згоди) планується включити 250 пацієнтів. Набір проводиться у трьох центрах по 80-85 пацієнтів у кожному для забезпечення репрезентативності та оцінки міжцентрової варіабельності результатів.

Статистичний аналіз: Діагностична точність оцінюватиметься шляхом побудови таблиць спряженості (2×2) та розрахунку наступних показників з 95% довірчими інтервалами: чутливість (sensitivity), специфічність (specificity), позитивна прогностична цінність (PPV), негативна прогностична цінність (NPV), відношення правдоподібності позитивного результату (LR+) та негативного результату (LR-).

Узгодженість результатів між мікрофлюїдним чіпом та референтним методом оцінюватиметься за коефіцієнтом каппа Коена (κ): значення $\kappa > 0.8$ вказує на відмінну узгодженість, 0.6-0.8 – добру, 0.4-0.6 – помірну, < 0.4 – слабку узгодженість.

Аналіз проводиться для всієї популяції включених пацієнтів (intention-to-diagnose analysis) та для популяції з валідними результатами обох методів (per-protocol analysis). Чутливість буде оцінюватися окремо для різних рівнів бактеріального навантаження (за результатами кількісної мікроскопії або GeneXpert) для визначення нижньої межі детекції у клінічних зразках.

Статистична обробка даних проводитиметься у програмному середовищі R (пакети epiR, caret) або SPSS. Рівень статистичної значущості встановлюється як $p < 0.05$ [27].

6.3.5. Процедури дослідження

Взяття зразків: Від кожного учасника збирається щонайменше 5 мл мокротиння ранкової порції згідно зі стандартними процедурами. Зразок ділиться на три аліквоти:

- Аліквота 1 (2 мл) – для культурального дослідження та визначення лікарської чутливості у системі BACTEC MGIT 960
- Аліквота 2 (2 мл) – для тестування мікрофлюїдним чіпом
- Аліквота 3 (1 мл) – резервна, зберігається при -80°C для додаткових досліджень у разі розбіжних результатів

Обробка зразків: Зразки для мікрофлюїдного чіпу обробляються згідно з інструкцією виробника. Мокротиння деконтамінується та концентрується центрифугуванням. 100 мкл суспензії вноситься у чіп. Автоматизована система проводить лізис, екстракцію ДНК, ампліфікацію та детекцію протягом 90-120 хвилин. Результати реєструються у електронній формі звіту.

Референтні методи: Культуральне дослідження проводиться у рідкому середовищі MGIT з автоматичною детекцією росту. Визначення лікарської чутливості до рифампіцину, ізоніазиду, етамбутолу, піразинаміду, фторхінолонів виконується у системі MGIT згідно з рекомендаціями виробника. Час до отримання результатів – 2-4 тижні.

Для розбіжних результатів (позитивний результат чіпу при чутливому культуральному тесті або навпаки) проводиться арбітражне секвенування відповідних генів резистентності за методом Сенгера для визначення істинного статусу резистентності [20, 26].

6.3.6. Оцінка безпеки

Оскільки мікрофлюїдний чіп використовується для аналізу зразків поза організмом пацієнта і не передбачає жодних інвазивних процедур чи введення

речовин в організм, прямі ризики для учасників дослідження відсутні. Проте протокол передбачає моніторинг наступних аспектів безпеки:

Безпека персоналу: Реєструються всі випадки експозиції персоналу до інфекційного матеріалу (розлив зразків, пошкодження чіпу з витоком вмісту). Персонал проходить навчання з біологічної безпеки, використовує засоби індивідуального захисту, робота проводиться у боксах біобезпеки класу II [8, 13].

Конфіденційність: Зразки та результати кодуються унікальними ідентифікаторами. База даних з персональними даними пацієнтів зберігається окремо від результатів досліджень. Доступ до даних мають лише уповноважені члени дослідницької групи [3].

Вплив на клінічні рішення: Результати мікрофлюїдного чіпу не використовуються для прийняття терапевтичних рішень під час дослідження. Лікування пацієнтів проводиться на основі стандартних діагностичних методів згідно з клінічними протоколами. Це забезпечує, що можливі помилки експериментального методу не вплинуть на якість медичної допомоги учасникам.

6.3.7. Етичні аспекти

Протокол дослідження та форма інформованої згоди схвалюються комітетом з біоетики установи до початку набору учасників. Дослідження проводиться відповідно до принципів Гельсінської декларації та Належної клінічної практики [3, 8].

Інформована згода отримується від всіх учасників у письмовій формі після детального пояснення мети дослідження, процедур, можливих ризиків та користі, права відмовитися від участі або відкликати згоду у будь-який час без впливу на якість медичної допомоги. Для пацієнтів з обмеженою медичною грамотністю надається додаткове усне пояснення доступною мовою.

Оскільки дослідження не передбачає додаткових інвазивних процедур (використовуються зразки, що збираються для стандартної діагностики), додаткове навантаження на пацієнтів мінімальне. Потенційна користь полягає

у можливості у майбутньому отримувати швидші та точніші результати діагностики резистентності, що покращить результати лікування.

6.3.8. Моніторинг та звітність

Хід дослідження монітується координатором дослідження з місячною частотою. Відстежуються темпи набору учасників, частота відхилень від протоколу, технічні проблеми з обладнанням, будь-які питання безпеки. Проміжний аналіз даних проводиться після включення 50% запланованих учасників для оцінки необхідності коригування розміру вибірки або процедур.

Серйозні небажані події, пов'язані з дослідженням (хоча їх виникнення малоймовірне для діагностичного дослідження без втручання), повідомляються комітету з етики протягом 24 годин. Всі відхилення від протоколу документуються з поясненням причин.

Після завершення дослідження складається фінальний звіт з результатами первинних та вторинних кінцевих точок, аналізом підгруп, обговоренням обмежень дослідження. Результати публікуються у рецензованих наукових журналах та презентуються на профільних конференціях. Дані з дослідження використовуються для оформлення Технічного файлу на медичний виріб [8, 9, 12].

6.4. Висновки щодо клінічних даних

Аналіз літератури демонструє, що існуючі методи діагностики антибіотикорезистентності *M. tuberculosis* мають суттєві обмеження – культуральні методи є тривалими, молекулярні мають обмежений спектр детекції або високу вартість [14, 20, 23, 25]. Мікрофлюїдні технології представляють перспективну альтернативу, що може поєднати швидкість, багатопараметричність та доступність [16, 22, 26].

Клінічні ризики, пов'язані з використанням мікрофлюїдного чіпу, є керованими за умови дотримання належних процедур інтерпретації результатів та біологічної безпеки. Найбільш значущим є ризик

хибнонегативних результатів, що вимагає встановлення чітких критеріїв, коли потрібне підтвердження іншими методами.

Запропонований план клінічного дослідження є адекватним для оцінки діагностичної точності виробу. Включення достатньої кількості учасників, використання референтних стандартів, сліпий метод оцінки, коректний статистичний аналіз забезпечать надійність результатів відповідно до вимог ISO 14155 та регуляторних органів [3, 8, 9, 12].

Успішна клінічна валідація дозволить отримати реєстраційне посвідчення на медичний виріб та впровадити його у практику протитуберкульозних закладів України, що сприятиме покращенню якості діагностики та результатів лікування мультирезистентного туберкульозу згідно з рекомендаціями ВООЗ [23, 25].

VII. МАРКУВАННЯ ТА ІНСТРУКЦІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯ

7.1. Загальні положення

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої резистентності супроводжується інформацією, необхідною для його безпечного та правильного застосування з урахуванням рівня підготовки та кваліфікації користувачів – лабораторного персоналу спеціалізованих мікробіологічних лабораторій. Маркування виробу здійснюється відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів [9, 12] та гармонізованих стандартів.

Інформація надається у формі символів відповідно до ДСТУ EN 980:2007 "Символи графічні для маркування медичних виробів", ДСТУ EN 1041:2015 "Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник", ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 "Вироби медичні. Символи, застосовані під час маркування на медичних виробах, етикетках та в супровідній документації. Частина 1. Загальні вимоги". Використані символи та їх значення описані у даному розділі та дублюються в інструкції для використання.

7.2. Етикетка медичного виробу

Етикетка розміщується на індивідуальній упаковці мікрофлюїдного чіпу та містить наступні обов'язкові елементи:

МІКРОФЛЮІДНИЙ ЧІП ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ГЕНІВ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ M. TUBERCULOSIS

Microfluidic Chip for Detection of Antibiotic Resistance Genes

Виробник: [Найменування компанії]

Адреса: [Повна адреса виробника], Україна

Тел.: [Контактний телефон], E-mail: [Email]

Код виробу: MFC-MTB-001

Партія/Lot: [Номер партії]

Придатний до: [ММ/РРРР]

ОДНОРАЗОВОГО ВИКОРИСТАННЯ / Single Use Only

Зберігати при: +4°C до +8°C

Захищати від світла та вологи

УВАГА! Біологічна небезпека

Перед використанням ознайомтесь з інструкцією

Відповідає вимогам Технічного регламенту № 753

СЕ[При наявності сертифікації]

7.3. Таблиця використаних символів

Символ	Назва за стандартом	Значення
(ISO 15223-1: 5.1.1)	Виробник	Вказує найменування та адресу виробника медичного виробу
(ISO 15223-1: 5.1.6)	Каталожний номер	Код для ідентифікації медичного виробу
(ISO 15223-1: 5.1.5)	Код партії	Номер партії виробника
(ISO 15223-1: 5.1.4)	Термін придатності	Дата, після якої медичний виріб не повинен використовуватися
(ISO 15223-1: 5.4.2)	Не використовувати повторно	Медичний виріб призначений для одноразового використання
(ISO 15223-1: 5.3.7)	Температурні обмеження	Діапазон температур зберігання та/або транспортування
(ISO 15223-1: 5.3.2)	Захист від світла	Зберігати в захищеному від світла місці

(ISO 15223-1: 5.4.4)	Біологічний ризик	Виріб може становити біологічну небезпеку
(ISO 15223-1: 5.4.3)	Ознайомтесь з інструкцією	Перед використанням необхідно прочитати інструкцію

7.4. Зовнішня упаковка (вторинна)

Картонна коробка, що містить 10 індивідуально упакованих чіпів, маркується наступною інформацією:

- Найменування виробу українською та англійською мовами
- Найменування та адреса виробника
- Код виробу та номер партії
- Термін придатності
- Умови зберігання (+4 до +8°C, захист від світла)
- Кількість одиниць в упаковці (10 шт.)
- Символ "Одноразового використання"
- Символ "Біологічна небезпека"
- Напис "Містить інструкцію з використання"
- Знак відповідності технічним регламентам

7.5. Інструкція для використання

7.5.1. Загальна інформація

Найменування виробу: Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів набутої антибіотикорезистентності *Mycobacterium tuberculosis*

Призначення виробу: Швидка молекулярно-генетична діагностика наявності мутацій у генах (*rpoB*, пов'язаних із резистентністю до рифампіцину; *katG* та *inhA* — до ізоніазиду; *embB* — до етамбутолу; *pncA* — до піразинаміду; *gyrA* та *gyrB* — до фторхінолонів; *rrs* і *eis* — до аміноглікозидів) що асоційовані з резистентністю до протитуберкульозних препаратів (рифампіцин, ізоніазид, етамбутол, піразинамід, фторхінолони, аміноглікозиди) у клінічних ізолятах *M. tuberculosis*.

Виробник: [Повне найменування та адреса виробника]

Дата випуску інструкції: [Дата]

Версія документа: 1.0

7.5.2. Опис виробу та принцип роботи

Мікрофлюїдний чіп являє собою одноразовий діагностичний пристрій, що інтегрує всі етапи молекулярно-генетичного аналізу у єдиній закритій системі. Виріб складається з багатошарової полімерної структури з мікроканалами та реакційними камерами, що забезпечують послідовне проведення лізису бактеріальних клітин, екстракції ДНК, полімеразної ланцюгової реакції та детекції результатів [14, 16].

Принцип роботи базується на виявленні специфічних мутацій у генах *groV*, *katG*, *inhA*, *embB*, *pncA*, *rrs*, що відповідають за розвиток резистентності до відповідних антибіотиків. Метод використовує ампліфікацію цільових послідовностей ДНК з наступною детекцією у режимі реального часу за допомогою флуоресцентних зондів [20].

Час аналізу: 90-120 хвилин

Аналітична чутливість: 100-1000 копій геномної ДНК *M. tuberculosis*

Аналітична специфічність: >98% для виявлення цільових мутацій

7.5.3. Склад комплекту

- Мікрофлюїдний чіп у стерильній індивідуальній упаковці – 1 шт.
- Позитивний контроль (ДНК *M. tuberculosis* з відомими мутаціями) – 1 ампула
- Негативний контроль (стерильна вода) – 1 ампула
- Інструкція з використання

Примітка: Реагенти для лізису, екстракції та ампліфікації попередньо завантажені у відповідні камери чіпу.

7.5.4. Необхідне додаткове обладнання

- Базова станція з термоциклером та системою оптичної детекції (постачається окремо або виробником чіпу, або сумісне обладнання інших виробників)

- Персональний комп'ютер з програмним забезпеченням для обробки даних
- Центрифуга для підготовки зразків
- Автоматичні піпетки з регульованим об'ємом (100-1000 мкл)
- Одноразові наконечники з фільтрами
- Бокс біологічної безпеки класу II або вище
- Засоби індивідуального захисту (рукавички, захисні окуляри, лабораторний халат)

7.5.5. Тип зразків та підготовка

Тип зразків: Мокротиння, бронхоальвеолярний лаваж, аспірати від пацієнтів з підозрою або підтвердженим діагнозом туберкульозу легень.

Підготовка зразків:

1. Зразок мокротиння обробляється рівним об'ємом муколітичного агента (N-ацетил-L-цистеїн-натрій гідроксид) для розрідження слизу
2. Інкубація при кімнатній температурі 15-20 хвилин
3. Центрифугування при 3000 g протягом 15 хвилин
4. Видалення надосадової рідини
5. Ресуспендування осаду у 500 мкл фосфатно-сольового буфера
6. Використання 100 мкл суспензії для аналізу

Умови зберігання зразків: Підготовлені зразки мають бути проаналізовані протягом 4 годин після підготовки або заморожені при -20°C для довгострокового зберігання (до 1 місяця).

7.5.6. Процедура використання

Підготовка робочого місця:

- Увімкнути бокс біологічної безпеки за 15 хвилин до початку роботи
- Обробити робочу поверхню дезінфікуючим розчином (70% етанол або 0.5% гіпохлорит натрію)
- Надіти засоби індивідуального захисту
- Увімкнути базову станцію та програмне забезпечення

- Дати чіпам акліматизуватися до кімнатної температури (15-20 хвилин)

Проведення аналізу:

1. Обережно розкрити індивідуальну упаковку чіпу, не торкаючись до вхідних портів
2. Встановити чіп у базову станцію згідно з інструкцією до обладнання
3. Внести 100 мкл підготовленого зразка у вхідний порт чіпу, позначений червоним кольором
4. Закрити порт захисною кришкою
5. У програмному забезпеченні ввести ідентифікаційний номер зразка та інформацію про пацієнта
6. Запустити програму аналізу, натиснувши кнопку "START"
7. Слідкувати за процесом аналізу на екрані монітора (відображається поточний етап, температура, час)
8. Після завершення аналізу (90-120 хвилин) програма автоматично сформує звіт з результатами
9. Обережно вийняти використаний чіп із станції, тримаючи за краї
10. Помістити чіп у контейнер для біологічно небезпечних відходів

ВАЖЛИВО: Під час роботи чіпу не вимикати базову станцію та не переміщувати її. Віб्राції та удари можуть порушити процес аналізу.

7.5.7. Інтерпретація результатів

Результати аналізу відображаються у вигляді таблиці з вказанням для кожного гена резистентності:

- **ВИЯВЛЕНО** – детектовано мутацію, що асоціюється з резистентністю до відповідного антибіотика
- **НЕ ВИЯВЛЕНО** – мутації резистентності не виявлено, штам чутливий до антибіотика
- **НЕВИЗНАЧЕНИЙ** – результат не може бути інтерпретований (низька якість зразка, технічна помилка)

Контроль якості:

- Позитивний контроль має давати результат "ВИЯВЛЕНО" для всіх цільових генів
- Негативний контроль має давати результат "НЕ ВИЯВЛЕНО" для всіх генів
- Якщо контролю не відповідають очікуваним результатам, всі результати серії аналізів визнаються недійсними і аналіз повторюється з новими чіпами

Клінічна інтерпретація:

Виявлення генів резистентності вказує на ймовірну неефективність відповідних антибіотиків. Проте остаточне рішення про схему лікування приймає лікар-фтизіатр з урахуванням клінічної картини, анамнезу пацієнта та інших діагностичних даних. У випадках невідповідності між результатами тесту та клінічною відповіддю на терапію рекомендується підтвердження результатів культуральним методом визначення лікарської чутливості або секвенуванням [14, 23].

7.5.8. Обмеження методу

- Тест виявляє лише найбільш поширені мутації резистентності. Рідкісні або нові мутації можуть бути не детектовані
- Мінімальне бактеріальне навантаження у зразку має становити не менше 10^4 КУО/мл для надійної детекції
- Наявність домішок у зразку (кров, гній у великій кількості) може знизити чутливість аналізу
- Тест не диференціює *M. tuberculosis* від деяких близькоспоріднених мікобактерій комплексу МТВС
- Результати стосуються лише протестованого зразка і можуть не відображати повний профіль резистентності у випадку гетерорезистентності (змішана популяція чутливих та резистентних штамів)

- Тест не замінює культуральні методи для первинної діагностики туберкульозу та повного визначення чутливості до всіх препаратів [20, 26]

7.5.9. Заходи безпеки та застереження

УВАГА! Біологічна небезпека

- Зразки від пацієнтів можуть містити живі патогенні мікобактерії. Вся робота зі зразками проводиться у боксі біологічної безпеки класу II або вище
- Персонал повинен бути навчений правилам роботи з інфекційним матеріалом та використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, захисні окуляри, маску або респіратор FFP2/N95, лабораторний халат)
- При розливі зразка або пошкодженні чіпу негайно обробити забруднену поверхню дезінфектантом (0.5-1% розчин гіпохлориту натрію або 70% етанол), витримати експозицію згідно з інструкцією до дезінфектанту
- У разі контакту зразка зі шкірою або слизовими промити великою кількістю води та звернутися до медичного персоналу
- Використані чіпи є потенційно інфекційними та утилізуються як медичні відходи класу Б (епідеміологічно небезпечні). Перед утилізацією рекомендується автоклавування при 121°C протягом 20 хвилин [8, 13]

Запобіжні заходи щодо контамінації:

- Використовувати окремі робочі зони для підготовки зразків, внесення зразків у чіп та аналізу результатів
- Застосовувати одноразові наконечники з аерозольними фільтрами
- Не відкривати чіп після завершення аналізу
- Регулярно проводити дезінфекцію робочих поверхонь та обладнання
- Включати у кожну серію аналізів негативний контроль для виявлення контамінації

7.5.10. Умови зберігання та транспортування

Зберігання:

- Температура: +4°C до +8°C (НЕ заморожувати!)
- Зберігати в оригінальній упаковці, захищеній від світла та вологи
- Не використовувати після закінчення терміну придатності
- Термін придатності: 12 місяців від дати виготовлення
- Після розкриття індивідуальної упаковки використати чіп протягом 1 години

Транспортування:

- Температура: +2°C до +8°C
- Використовувати термоізовані контейнери з охолоджуючими елементами для підтримання рекомендованої температури
- Захищати від прямих сонячних променів, заморожування, перегріву >+30°C
- Захищати від механічних пошкоджень (удари, падіння, надмірна вібрація)
- Максимальний час транспортування без додаткового охолодження – 72 години [24]

7.5.11. Технічне обслуговування базової станції

- Щоденно: огляд станції на наявність видимих пошкоджень, перевірка правильності встановлення чіпу
- Щотижнево: очищення оптичних вікон спеціальними серветками для оптики, дезінфекція зовнішніх поверхонь
- Щомісяця: калібрування температурних сенсорів за допомогою контрольних зразків
- Щокварталу: профілактичне обслуговування сертифікованим технічним персоналом (перевірка всіх систем, оновлення програмного забезпечення)
- Детальну інформацію див. у інструкції до базової станції [17]

7.5.12. Дії у випадку несправності

Проблема	Можлива причина	Рішення
Чіп не розпізнається станцією	Неправильно встановлений чіп	Перевірити орієнтацію чіпу, переставити згідно з маркуванням
Помилка "Температура не досягнута"	Несправність нагрівача	Зупинити аналіз, звернутись до технічної підтримки
Невизначений результат	Недостатня кількість ДНК у зразку	Повторити аналіз з більшим об'ємом зразка або концентрованим зразком
Негативний контроль позитивний	Контамінація реагентів або робочої зони	Ретельно дезінфікувати робоче місце, використати нову партію чіпів
Позитивний контроль негативний	Деградація реагентів, несправність чіпу	Перевірити термін придатності, повторити з новим чіпом

Технічна підтримка:

Телефон: [Номер гарячої лінії]

E-mail: [Email технічної підтримки]

Години роботи: Пн-Пт 9:00-18:00 (за київським часом)

7.5.13. Повідомлення про інциденти

Про будь-які серйозні інциденти, пов'язані з використанням виробу (невірні результати, що призвели до клінічних наслідків; несправності, що

створили ризик для персоналу або пацієнтів; інші події, що можуть вплинути на безпеку), необхідно повідомити:

- Виробника за контактами, вказаними вище
- Державну службу України з лікарських засобів та контролю за наркотиками (для реєстрованих виробів в Україні)
- Місцевий орган охорони здоров'я згідно з локальними процедурами [6, 7, 8]

7.5.14. Додаткова інформація

Нормативна база:

- Технічний регламент щодо медичних виробів (Постанова КМУ № 753 від 02.10.2013) [9, 12]
- ДСТУ EN ISO 13485:2018 Медичні вироби. Система управління якістю [2]
- ДСТУ ISO 9001:2015 Системи управління якістю [4]

Література:

Детальна інформація про науковий базис методу, клінічну валідацію та принципи інтерпретації результатів доступна у наукових публікаціях [14, 20, 23, 26].

Навчальні матеріали:

Виробник надає навчальні відеоматеріали та презентації для персоналу лабораторій. Доступ до матеріалів за запитом на веб-сайті виробника або через технічну підтримку.

7.6. Маркування для поєднання з іншими медичними виробами

Мікрофлюїдний чіп функціонує виключно у складі аналітичної системи з базовою станцією. В інструкції чітко зазначено характеристики сумісного обладнання:

- Модель базової станції виробника або сумісні моделі інших виробників
- Версія програмного забезпечення (мінімальна сумісна версія)

- Технічні вимоги до обладнання (діапазон термоконтролю, точність, швидкість нагріву/охолодження)
- Оптичні характеристики системи детекції (довжини хвиль збудження та емісії флуоресценції)

Використання чіпу з несумісним обладнанням може призвести до невірних результатів або пошкодження виробу. Відповідальність за наслідки такого використання несе користувач [17].

7.7. Застосування символів відповідно до стандартів

Всі графічні символи, використані на етикетці та упаковці, відповідають вимогам гармонізованих стандартів ДСТУ EN 980:2007, ДСТУ EN 1041:2015, ДСТУ EN ISO 15223-1:2018. У випадках, коли стандартизований символ відсутній для специфічної інформації, використовується текстове пояснення українською та англійською мовами.

Ідентифікаційні кольори для маркування портів чіпу:

- Червоний – вхід для зразка
- Синій – вихід повітря
- Зелений – порт для контрольних розчинів (при наявності)

Колірне кодування відповідає загальноприйнятим практикам у лабораторній діагностиці та описане в інструкції з використання для уникнення помилок при роботі.

7.8. Заключні положення

Маркування та інструкції до мікрофлюїдного чіпу розроблені з урахуванням вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів [9, 12], міжнародних стандартів та специфіки застосування виробу висококваліфікованим лабораторним персоналом. Інформація надається у доступній формі з використанням стандартизованих символів та чітких інструкцій для забезпечення безпечного та ефективного використання виробу.

Виробник залишає за собою право вносити зміни до інструкції у зв'язку з удосконаленням виробу або зміною регуляторних вимог. Актуальна версія

документації завжди доступна на веб-сайті виробника. Користувачі інформуються про значні зміни через офіційні канали комунікації [6, 7, 8].

VIII. ВИРОБНИЦТВО

8.1. Загальний опис виробничого процесу

Виробництво мікрофлюїдного чіпу для ідентифікації генів антибіотикорезистентності здійснюється відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 13485:2018 "Медичні вироби. Система управління якістю" [2] та належної виробничої практики для медичних виробів. Виробничий процес включає декілька послідовних стадій: виготовлення полімерних компонентів методом мікрофабрикації, складання багатошарової структури чіпу, стерилізацію, асептичне завантаження реагентів, контроль якості та упаковку [16, 24].

Виробництво організоване за принципом безперервного потоку з чіткими контрольними точками на кожній стадії для забезпечення однорідності готової продукції. Всі критичні операції проводяться у приміщеннях з контрольованими умовами навколишнього середовища (чисті кімнати класу C та D згідно з GMP), що мінімізує ризик контамінації та забезпечує стабільність технологічного процесу [2, 4].

8.2. Технологічна схема виробництва

ДР 1. Санітарна підготовка приміщення

ДР1.1 Підготовка миючих і дезінфікуючих засобів

ДР 1.1.1 Підготовка миючих засобів

Для промиття підлоги, використовуємо миючий засіб Virkon - дезінфекційний засіб, який містить кілька активних компонентів. Пероксимоносульфат калію - це окислювач, який знищує бактерії, віруси та гриби. Додецилбензолсульфонат натрію - це миючий засіб, який очищає поверхні від забруднень. Сульфамінова кислота - це очищувач, який видаляє залишки дезінфекційних засобів. Неорганічні буфери допомагають підтримувати оптимальний рівень рН для ефективної дезінфекції. Розводимо 1 пакетик на 5 літрів дистилату.

ДР 1.1.2 Підготування дезінфікуючих засобів

Для очищення обладнання, посуду, інструментів, одягу та робочих

поверхонь. Для дезінфекції застосовуємо розчин етилового спирту з концентрацією 70% та розчин порошку Хлорантоїну. Щоб запобігти розвитку стійкості мікроорганізмів, необхідно періодично змінювати дезінфікуючі засоби.

ДР 1.2 Стерилізація і підготовка посуду та інструментів

Інструменти та посуд, проходять стерилізацію у автоклаві, під тиском 1.0 атмосфери. Температура у камері: 180 градусів Цельсія. Час автоклавування: 1 година. Після чого інструментарій та посуд, перевозяться у робочу зону.

ДР 1.3 Прибирання приміщення

Для мінімізації ризику мікробіологічних забруднень усі приміщення та устаткування, що використовуються у лабораторії, підлягають ефективній дезінфекції.

ДР 1.3.1 Прибирання

Щоденне прибирання проводиться після кожної зміни вологим способом. Для цього використовують теплу воду з мийним розчином від ДР 1.1.2 у співвідношенні 100-150 мл на 1 м².

Прибирання починають зі стелі, потім спускаються до стін, столів, інших поверхонь, дверей, вікон, підлоги. Після цього поверхні промивають теплою водою, чекають висихання та проводять дезінфекційну обробку розчином від ДР 1.1.1. По закінченню прибирання приміщення оформляють відповідний протокол.

Генеральне прибирання проводять 1 раз на тиждень. Воно включає в себе етапи щоденного прибирання, а також зняття та дезінфекцію знімних деталей, очищення каналізаційних систем, прибирання підлоги, стін, стелі, повітропроводів, підвіконня, поверхні всього обладнання, комунікацій і меблів. Обробку проводять відповідними стосовно походженню матеріалів миючими та дезінфекційними засобами.

ДР 2 Підготовка персоналу

Перед тим як зайти до лабораторного приміщення, співробітники,

одягають продезінфікований розчином ДР1.1.1 технологічний одяг, у який входить: лабораторний халат, медичні-рукавиці, пластикові окуляри які закривають очі, марлева пов'язка, шапочка для волосся, одноразові капці.

ДР 3 Підготовка чистого повітря

ДР 3.1 Забір повітря з атмосфери

Забір атмосферного повітря здійснюється за допомогою спеціального повітрозбірника. Температура повітря має бути не менше 22 °С, та не більше 25°С а вологість - 60-70%.

ДР 3.2 Прогін повітря через фільтра

Фільтрування повітря здійснюють для механічної та часткової мікробіологічної очистки. Решітки трубопроводу затримують великі фракції та частинки.

Грубі фільтри затримують частинки розміром до 10 мкм, зокрема комах, пір'я, насіння рослин, пух, сажу та великі частинки пилу. Вони виготовляються з синтетичних волокон або металевої сітки.

Тонка фільтрація проводиться за допомогою кишенькових або складчастих фільтрів, які затримують частинки діаметром до 1 мкм.

Надтонка фільтрація дозволяє затримати частинки розміром до 0,5 мкм. Для цього використовують фільтри, що забезпечують ефективність очищення повітря більш ніж на 96%.

ДР 3.3 Опромінення робочої зони УФ-лампю

Ультрафіолетове випромінювання відбувається за допомогою однієї лампи, та одного рециркулятора повітря над дверима. Опромінення проходить за умов 265 нм, 180 хв. По закінченню роботи основної лампи, рециркулятор продовжує свою роботу до кінця зміни.

ДР 4 Підготовка обладнання перед використанням

ДР 4.1 Підготовка центрифуги

Корпус центрифуги та ротор, ретельно обробляються спиртом 70% та розчином порошку Хлорантоїну ДР1.1.1. Ротор та внутрішні поверхні, не повинні містити осаду чи будь-якого забруднення. Персонал переконується

що апарат працює виправно: відсутні деформації, відхилення, чи проблеми з електрикою. Робиться тестовий запуск, на виявлення відхилень у калібрації, зайвих вібрацій та загальну роботу механізмів та автоматики.

ДР 4.2 Підготовка термостата

Корпус та інтер'єр термостата, ретельно обробляється та промивається спиртом 70% та розчином порошку Хлорантоїну ДР1.1.1. Полиці виймаються, та також підлягають ретельній обробці. Стінки та полиці, не мають містити сліди будь-якого осаду, забруднення чи слідів готового розчину. Персонал робить тестовий запуск термостату, щоб переконатися у його справності та відсутності будь-яких пошкоджень чи розгерметизації.

ДР 4.3 Розміщення мікрофлюїдного чіпу

Заздалегідь принесений та прочищений чіп, розміщується на предметному стільці мікроскопу у малому скляному боксі, задля зменшення забруднення поверхні мікроскопу відходами. Персонал під'єднує до вхідних портів трубки по яким буде поступати лізат та інші допоміжні речовини. Для того щоб запевнитись що нічого не буде перешкоджати течії лізату, через чіппроганяють 0.05 мл надчистої води.

ДР 4.4 Калібрування камери мікроскопу

Камера потрібна для того, щоб зробити знімок фінального результату. Вбудована камера у нашому мікроскопі, має додаткове розбиття 2x2, що допоможе у випадку чого, зробити більш детальний знімок. Персонал налаштовує фокус камери на 1.25x, для оптимального зображення усього результату електрофорезу.

ДР 4.5 Підготовка ванночки для електрофорезу

Ванночка ретельно обробляється спиртом 70% та розчином порошку Хлорантоїну. Ванночка не повинна містити будь яких візуальних перешкоджувачів, таких як: відбитки пальців, пил, розводи. Персонал під'єднує ванночку трубкою до чіпу, та також виставляє її на предметний стілець мікроскопу.

ДР 4.6 Перевірка працездатності водяного насосу

Насос під'єднаний трубою до герметичної бочки з надчистою водою, яка знаходиться на складі. Перед тим, як використовувати насос, персонал зливає залишки води які могли залишитись у трубі. Після цього, роблять тестовий злив, у 100 мл до будь якої вільної тари з ДР1.2.

ДР 5 Підготовка матеріалів

ДР 5.1 Підготовка сировини та допоміжних матеріалів для виробництва чіпа.

На цій стадії здійснюється підготовка усіх необхідних компонентів, що входять до складу мікрофлюїдного чіпа або використовуються під час його виготовлення:

ДР 5.1.1 Підготовка полімерної сировини.

Отримані з сертифікованих джерел полімери (наприклад, PDMS, SU-8, епоксидні смоли) перевіряються на відповідність технічним умовам (TDS). Здійснюється контроль вхідної якості: в'язкість, ступінь прозорості, чистота.

ДР 5.1.2 Підготовка реагентів для обробки поверхонь.

До них належать: ізопропіловий спирт, силанізуювальні агенти, буфери для плазмової активації, приходять зі складу готовими до використання у виробництві чіпа. Після надходження зі складу обробляють поверхню упаковки дезинфікуючим розчином.

ДР 5.1.3 Підготовка герметизувальних та з'єднувальних матеріалів.

Клеї на основі епоксидів, термопластичні плівки або ущільнювальні кільця перевіряються на відсутність домішок, прозорість, відповідність розміру. Постачаються упакованими у стерильні контейнери. Надходять зі складу готовими до використання у виробництві чіпа. Після надходження зі складу обробляють поверхню упаковки дезинфікуючим розчином.

ДР 5.1.4 Підготовка тестових зразків та маркерних реагентів.

Лізуючий розчин створюють на основі ферментів, таких як лізоцим (стоковий розчин 20 мг/мл шляхом зважування 100 мг лізоциму та розчинення в буфері), з подальшим зберіганням при +7–8 °С. Процес включає

центрифугування супернатанту протягом 15 хв для отримання чистої ДНК

Стандартні розчини для контролю роботи чіпа виготовляють на деіонізованій воді, додаючи буфери (наприклад, тріс-гліциновий рН 8,3 з борною кислотою 0,1%) та реагенти для електрофорезу, вирівнюючи проби за вмістом ДНК (близько 10 мкг). Концентровані розчини розводять у 5 разів з додаванням 2 мг DTT на 1 мл буфера, уникаючи домішок іонів важких металів. Для перевірки застосовують реагенти на кшталт бензидинового (125 мг бензидину в оцтовій кислоті, доведений водою до 50 мл) або 0,1% перекису водню. ДР 5.1.5 Підготовка пакувальних матеріалів.

Поліетиленові мішки, блістери, вторинні коробки. Перевіряється цілісність, відсутність пилу, відповідність розміру. Упаковка стерилізується перед використанням.

ДР 5.2 Приготування розчину для лізингу

На окремому столі, зі складу було принесено хімічні реактиви. На аналітичних вагах, зважуються: NH_4Cl амоній хлорид (8.02 г), NaHCO_3 гідрокарбонат натрію (0.84 г), EDTA (0.37 г). З них робиться наважка, у яку потім додають 100 мл надчистої води. Розчин розміщується у Р-1, у ручну за допомогою мішалки ДР1.2, до поки більшість великих фракції не розчиняться у воді. Готовий розчин, розливають у 10 мл тари ДР1.2 і закупорюють кришками. Якщо концентрацію розчину, треба буде зменшити, тоді до 10 мл розчину для лізингу, додають 90 мл надчистою води і перемішують.

ДР 5.3 Інкубація

10 мл тари, розміщують на полиці термостата І-2, ДР4.2. Де персонал, виставляє температуру 22 °С, а час 15 хв.

За цей час, утвориться осад, який потім можна процентрифугувати. Також важливо підтримувати температуру у 22°С, щоб розчин не почав реакцію раніше.

ДР 5.4 Центрифугування розчину

У тари ДР1.2, наливають 10 мл проінкубованого розчину ДР5.3.

Персонал закриває кришку центрифуги та виставляє швидкість обертів на 500 об/хв, час 5 хв, а температуру 22°C. Центрифуга обладнана підігрівом, тому температура розчину не впаде нижче 22°C, що оптимізує час проведення лізингу крові. Центрифугування робиться, на випадок якщо хімічні реагенти не до кінця розчинилися, тоді утвориться осад, який прилипне до стін посуду. Розчин можна буде злити як деконтаж, без зайвих елементів

ДР5.5. Підготовка флуоресцентної фарби

Для процесу електрофорезу, була вибрана фарба GelGreen, так як вона не токсична та мутагенна на відмінну від бромистого етидію. Також її чутливість, набагато більша за інші типи фарб, вона складає: 0.5 pg, у порівнянні з 2.5 pg у бромистого етидію. Надходить зі складу готова до використання у виробництві чіпа. Після надходження зі складу обробляють поверхню упаковки дезинфікуючим розчином.

ТП 6. Формування мікроструктури чіпа

На цій стадії здійснюється створення мікроканалів та реакційних камер на підкладці майбутнього чіпа. Застосовується метод фотолітографії або мікромашинування з використанням світлочутливих полімерів (SU-8) або PDMS. Після нанесення фотошару, здійснюється експонування через маску з мікроканальною структурою, промивка та термообробка для фіксації рельєфу.

ТП 7. Обробка поверхні та модифікація

Мікроструктури піддаються активації плазмою або хімічній модифікації для поліпшення гідрофільності та забезпечення стабільного прилипання реагентів. Поверхні камер покриваються силанами або іншими адгезійними агентами, що підвищують зчеплення між шарами при подальшому з'єднанні.

ТП 8. З'єднання шарів чіпа

Шари мікрофлюїдного чіпа з'єднуються в єдину структуру за допомогою термічного пресування, плазмового зварювання або клейових

технологій. Критичним параметром є герметичність з'єднань. Після з'єднання проводиться перевірка на наявність витоків шляхом тестування протіканням надчистої води.

ТП 9. Інтеграція функціональних елементів

На цьому етапі встановлюються мікрофільтри, мікропомпи, нагрівальні елементи, камери ПЛР, електроди або оптичні сенсори. Компоненти розміщуються відповідно до дизайну чіпа, із дотриманням точності позиціонування. Після монтажу проводиться електричне або оптичне тестування компонентів.

ТП 10. Завантаження реагентів

У відповідні камери чіпа асептично завантажуються буфери, праймери, ферменти або інші біологічно активні компоненти. Процес здійснюється у чистій зоні класу В з зоною А. Для запобігання деградації чутливих компонентів використовуються спеціалізовані дозатори із захистом від УФ-світла та вологи.

ТП 11. Запаювання або герметизація

Після завантаження реагентів відкриті частини мікрофлюїдного чіпа герметизуються плівками, ущільнювачами або лазерним зварюванням. Мета — збереження стерильності та стабільності реагентів до моменту використання. Здійснюється контроль цілісності герметизації візуальним або механічним методом.

ПМВ 12. Упаковка в первинне пакування

Готові чіпи пакуються у стерильні індивідуальні пакети та вкладаються у захисні контейнери або блістери.

ПМВ 13. Маркування та контроль якості

Кожен чіп маркується унікальним кодом або QR-ідентифікатором. Проводиться серія контрольних випробувань: герметичність, точність об'єму, відповідність мікроструктур, оптична прозорість, функціональні тести на модельних розчинах. м Умови зберігання — при температурі +4...+8°C, у сухому середовищі, захищеному від світла. Партія чіпів

супроводжується документацією та проходить остаточне затвердження відділом контролю якості.

ЗВ 14. Знешкодження відходів

Всі відходи, які містять ДНК, залишки крові тощо, слід утилізувати як токсичні відходи. Це включає: наконечники піпеток, пробірки, посуд та інші предмети, які використовувалися для роботи з ДНК. Пломби з GenGreen та модулі ПЛР. Забруднене скляне обладнання.

Невеликі обсяги відходів етанолу та розчину порошку Хлорантоїну, можна збирати в пробірки Еппендорфа та утилізувати в жовті контейнери для токсичних відходів. З більшими обсягами слід поводитися як з небезпечними відходами

Використаний робочий буфер слід утилізувати як поглинаюче середовище. Використані поглиначі слід утилізувати в жовті контейнери для токсичних відходів.

8.3. Контроль в процесі виробництва

На кожній стадії виробничого процесу проводиться контроль критичних параметрів для забезпечення якості готової продукції [2, 4].

Стадія	Параметр контролю	Метод	Частота
Мікрофабрикація	Геометрія каналів	Профілометрія	1 на 50 чіпів
Складання	Герметичність	Тест під тиском	100%
Стерилізація	Доза опромінення	Дозиметри	Кожна партія
Приготування реагентів	Концентрація, рН	Спектрофотометрія, рН-метр	Кожна серія
Завантаження	Об'єм, стерильність	Гравіметрія, посів	1 на 200 чіпів
Функціональне тестування	Чутливість, специфічність	Тест на контролях	2-3 на партію

8.4. Запобіжні заходи для безперервного процесу

Для забезпечення однорідності готової продукції при безперервному виробничому процесі впроваджено наступні заходи [2]:

- Валідація технологічних процесів з визначенням критичних параметрів та діапазонів їх допустимих значень
- Кваліфікація обладнання (IQ/OQ/PQ) перед початком виробництва та періодична рекваліфікація
- Стандартні операційні процедури (СОП) для кожної операції з чіткими інструкціями
- Автоматизація критичних операцій (дозування, термозварювання) для зниження впливу людського фактору
- Статистичний контроль процесу (SPC) з контрольними картами для відстеження трендів
- Система FIFO (First In First Out) для сировини та напівфабрикатів
- Ідентифікація та простежуваність кожної партії від сировини до готової продукції
- Періодичний перегляд та оновлення виробничих процедур на основі даних контролю якості

8.5. Умови виробничих приміщень

Чисті кімнати класу C (ISO 7):

- Мікрофабрикація компонентів, приготування реагентів
- Кількість частинок ≥ 0.5 мкм: $< 352\,000$ на м^3
- Температура: $20\text{--}25^\circ\text{C}$, вологість: 40-60%
- Тиск: позитивний відносно коридорів (+15 Па)

Чисті кімнати класу B/A (ISO 5/3):

- Асептичне завантаження реагентів
- Кількість частинок ≥ 0.5 мкм: < 3520 на м^3 (клас A), < 29 на м^3 у критичній зоні
- Ламінарний потік повітря HEPA-фільтрованого (ефективність $> 99.97\%$)
- Персонал у стерильному одязі, подвійні рукавички

8.6. Документація виробництва

Згідно з вимогами ДСТУ EN ISO 13485:2018 [2] ведеться наступна виробнича документація:

- Виробнича рецептура (Manufacturing Formula) для кожного реагенту
- Виробничий протокол серії (Batch Production Record) для кожної партії чіпів
- Записи контролю якості на всіх стадіях
- Сертифікати аналізу (Certificate of Analysis) для вихідної сировини
- Протоколи валідації обладнання та процесів
- Журнали відхилень та коригувальних дій (CAPA)
- Звіти про стабільність готової продукції

Вся документація зберігається у відповідності до регуляторних вимог (мінімум 5 років після закінчення терміну придатності продукції) та доступна для інспекцій регуляторних органів [5, 9, 12].

8.7. Висновки

Виробничий процес мікрофлюїдного чіпу організований відповідно до принципів ISO з чіткими контрольними точками на кожній стадії [2, 4]. Використання автоматизованого обладнання, проведення виробництва у контрольованих умовах чистих кімнат та ретельний багаторівневий контроль якості забезпечують стабільність характеристик готової продукції від партії до партії [16, 24].

Впроваджена система простежуваності дозволяє відстежити кожен чіп від вихідної сировини до кінцевого користувача, що є критично важливим для управління якістю та реагування на можливі інциденти [6, 7]. Регулярна валідація процесів та періодичний перегляд виробничих процедур забезпечують постійне покращення якості продукції та відповідність сучасним регуляторним вимогам [2, 9, 12].

IX. КВАЛІФІКАЦІЯ УПАКОВКИ І СТРОК ПРИДАТНОСТІ

9.1. Загальні положення

Упаковка медичного виробу є критичним компонентом системи якості, що забезпечує збереження стерильності (для стерильних виробів), функціональності та властивостей продукту протягом усього терміну придатності [26, 28]. Кваліфікація упаковки проводиться відповідно до вимог стандартів ISO 11607-1:2019 "Упаковка для медичних виробів, які піддаються кінцевій стерилізації. Частина 1. Вимоги до матеріалів, систем стерильних бар'єрів та систем упаковки" та ISO 11607-2:2019 "Частина 2. Процеси валідації" [26].

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів антибіотикорезистентності містить термолабільні біохімічні реагенти (ферменти, праймери, буфери), що обумовлює необхідність ретельного вибору матеріалів упаковки та визначення оптимальних умов зберігання [24, 27]. Термін придатності обґрунтовується результатами досліджень стабільності в реальному часі та прискореного старіння згідно з рекомендаціями ASTM F1980 "Прискорене старіння стерильних бар'єрних систем для медичних виробів" [28].

9.2. Опис системи упаковки

9.2.1. Первинна упаковка (стерильний бар'єр)

Первинна упаковка забезпечує прямий контакт з виробом та підтримання його стерильності після стерилізації до моменту використання [26].

Конструкція:

- Багатошаровий гнучкий ламінат типу "четвертьна" або "трьохшарова" структура
- Розмір пакету: 150 × 100 мм (достатній для розміщення чіпу 75 × 50 мм з амортизацією)
- Метод закриття: термозварювання по периметру (ширина шва 10 мм)
- Відривна крайка для асептичного відкриття

Склад ламінату (від зовнішнього до внутрішнього шару):

Шар	Матеріал	Товщина (мкм)	Функція
Зовнішній	Поліетилентерефталат (ПЕТ)	12	Механічна міцність, друк інформації
Середній	Алюміній (фольга)	9	Бар'єр для світла, кисню, водяної пари
Внутрішній	Поліетилен низької щільності (ПЕНЦ)	75	Хімічна інертність, термозварювання
Загальна товщина			96 ± 5 мкм

Додаткові компоненти первинної упаковки:

- Амортизуючий вкладиш з поліуретанової піни (товщина 5 мм, щільність 30 кг/м³) для захисту від механічних ударів
- Пакетик з силікагелем (вага 1 г, вологопоглинальна здатність >30% при 25°C) для контролю вологості (<20% відносної вологості всередині упаковки)

9.2.2. Вторинна упаковка (захисна)

Вторинна упаковка забезпечує додатковий захист під час транспортування та зберігання [26].

Конструкція:

- Картонна коробка з мікрогофрокартону типу Е (гофра 1.5 мм)
- Розмір коробки: 200 × 150 × 80 мм для 10 чіпів або 280 × 200 × 100 мм для 25 чіпів
- Внутрішні перегородки з картону для фіксації індивідуальних упаковок

- Зовнішнє покриття коробки: глянцевого лаку на водній основі (стійкість до вологи)

Комплектація вторинної упаковки:

- Індивідуально упаковані мікрофлюїдні чіпи (10 або 25 шт.)
- Інструкція з використання (1 примірник, мови: українська, англійська)
- Позитивний контроль: ампула з лінеаризованою плазмідною ДНК *M. tuberculosis* (10^4 копій/мл, 100 мкл)
- Негативний контроль: ампула зі стерильною водою для ін'єкцій (100 мкл)
- Протокол контролю якості партії (1 примірник)

9.3. Властивості матеріалів упаковки

9.3.1. Бар'єрні властивості

Ключові бар'єрні властивості ламінату первинної упаковки визначені експериментально згідно з відповідними стандартами [26, 28].

Властивість	Метод випробування	Отримане значення	Норма
Проникність водяної пари (WVTR)	ASTM F1249 38°C, 90% RH	0.8 г/м²/добу	<1.5 г/м²/добу
Проникність кисню (OTR)	ASTM D3985 23°C, 0% RH	1.2 см³/м²/добу/атм	<5 см³/м²/добу/атм
Світлопроникність (видимий спектр 400-700 нм)	Спектрофотометрія	<0.1% (практично непрозорий)	<1%
УФ-захист (280-380 нм)	Спектрофотометрія	<0.01% пропускання	<0.1%

Алюмінієва фольга у складі ламінату забезпечує найвищий рівень захисту від світла, кисню та водяної пари, що є критично важливим для збереження активності термолабільних ферментів та флуоресцентних барвників у складі ПЛР-суміші [24].

9.3.2. Механічні властивості

Властивість	Метод випробування	Отримане значення	Норма
Міцність на розрив (подовжній напрямок)	ASTM D882	85 МПа	>60 МПа
Міцність на розрив (поперечний напрямок)	ASTM D882	78 МПа	>60 МПа
Відносне подовження при розриві	ASTM D882	45%	>20%
Опір проколюванню	ASTM F1306	12 Н	>8 Н
Міцність зварного шва	ASTM F88	18 Н/15мм	>15 Н/15мм

Механічні властивості забезпечують цілісність упаковки під час транспортування, зберігання та маніпуляцій медичним персоналом [26].

9.3.3. Біосумісність та хімічна інертність

Усі матеріали упаковки, що контактують з виробом, відповідають вимогам ISO 10993-5 "Біологічна оцінка медичних виробів. Частина 5. Тести на цитотоксичність *in vitro*" [13].

Проведені тести:

- Тест на цитотоксичність (метод прямого контакту з культурою клітин L929): відсутність цитотоксичного ефекту, життєздатність клітин >80%

- Екстракція летких речовин (gas chromatography-mass spectrometry): сліди мономерів <10 ppm (у межах допустимих норм)
- Міграція важких металів (атомно-абсорбційна спектроскопія): свинець <0.1 ppm, кадмій <0.05 ppm (відповідає вимогам)
- рН екстракту (витримка упаковки у воді для ін'єкцій 24 год при 70°C): рН 6.5-7.2 (нейтральний, не впливає на буферні системи реагентів)

9.4. Валідація упаковки

9.4.1. Валідація процесу термозварювання

Процес термозварювання первинної упаковки валідований згідно з ISO 11607-2 для забезпечення цілісності стерильного бар'єру [26].

Протокол валідації термозварювання:

- Обладнання: напівавтоматична установка для термозварювання з контролем температури $\pm 2^{\circ}\text{C}$ та тиску ± 0.1 бар
- Параметри зварювання:
 - Температура: $180 \pm 5^{\circ}\text{C}$
 - Тиск: 4.0 ± 0.5 бар
 - Час контакту: 2.0 ± 0.2 с
 - Ширина зварного шва: 10 ± 1 мм
- Дослідження діапазону параметрів (**Design of Experiments**): тестування 27 комбінацій температури (170, 180, 190°C), тиску (3.5, 4.0, 4.5 бар) та часу (1.8, 2.0, 2.2 с)
- **Критерії прийнятності:** міцність шва >15 Н/15мм, відсутність прориву барвника при випробуванні на герметичність
- **Результати валідації:** оптимальні параметри – 180°C, 4.0 бар, 2.0 с; міцність шва 18.2 ± 1.5 Н/15мм; герметичність 100% (n=90)

Валідація підтвердила робастність процесу у визначеному діапазоні параметрів. Щоденний моніторинг включає перевірку калібрування термопари та манометра, а також виконання контрольного зварювання зразків на початку кожної зміни [26].

9.4.2. Тестування цілісності упаковки

Цілісність упаковки перевіряється комбінацією методів відповідно до ASTM F2096 "Виявлення грубих витоків у упаковці" та ASTM F1929 "Виявлення витоків каналами у упаковці" [28].

Метод 1: Тест з барвником (Dye Penetration Test)

- Занурення запакованих виробів у 1% водний розчин метиленового синього
- Створення вакууму 50 кПа нижче атмосферного протягом 5 хвилин
- Повернення до атмосферного тиску, витримка 10 хвилин
- Промивання упаковки водою, розкриття та візуальна інспекція на наявність барвника всередині
- **Критерій прийнятності:** відсутність барвника всередині упаковки
- **Результат випробування (n=300):** 100% упаковок без проникнення барвника

Метод 2: Тест з газоподібним індикатором (міченим гелієм)

- Закачування гелію всередину упаковки перед зварюванням
- Розміщення упаковки у вакуумну камеру з мас-спектрометричним детектором гелію
- Виявлення мінімального витоку гелію (чутливість $<10^{-6}$ мбар·л/с)
- **Результат:** жодних витоків не виявлено у 100% зразків (n=100)

Метод 3: Візуальна інспекція

- 100% інспекція всіх виготовлених упаковок під освітленням 1000 лк
- Перевірка на наявність дефектів зварного шву (розриви, бульбашки, нерівності)
- Перевірка наявності пошкоджень ламінату (проколи, тріщини, деламінація)

- Документування всіх виявлених дефектів, відбракування дефектних упаковок

9.4.3. Мікробіологічні випробування

Підтримання стерильності упаковки після стерилізації є критичним показником якості для стерильних медичних виробів [26].

Протокол мікробіологічного випробування:

- **Тест на підтримання стерильності (Sterility Maintenance Test):**
 - Стерилізація порожніх упакованих чіпів (гамма-опромінення 25 кГр)
 - Зберігання при 25°C / 60% відносної вологості протягом 12 місяців
 - Відбір проб через 0, 3, 6, 9, 12 місяців (n=10 на кожний термін)
 - Асептичне відкриття упаковок у ламінарному боксі класу А
 - Промивання внутрішньої поверхні стерильним фізіологічним розчином (10 мл)
 - Посів промивної рідини на тіогліколеве живильне середовище та соєво-казеїновий агар
 - Інкубація при 30-35°C (аеробні бактерії) та 20-25°C (гриби) протягом 14 днів
 - **Критерій прийнятності:** відсутність росту мікроорганізмів у всіх пробах
- **Результати:** стерильність збережена у 100% зразків протягом 12 місяців

Тест стійкості до мікробної контамінації (Microbial Challenge Test):

- Експозиція упакованих стерильних чіпів у середовищі з високою концентрацією мікроорганізмів (*Bacillus atrophaeus* спори 10⁶ КУО/см²)
- Умови випробування: 30°C, 75% відносної вологості, 28 днів
- Після експозиції – розкриття упаковок та тестування на стерильність

- **Результат:** проникнення спор не виявлено, стерильність збережена у всіх зразках (n=30)

9.5. Дослідження стабільності та визначення терміну придатності

9.5.1. Програма досліджень стабільності

Програма досліджень стабільності розроблена відповідно до рекомендацій ASTM F1980 "Стандартний посібник для прискореного старіння стерильних бар'єрних систем медичних виробів" [28] та включає паралельні дослідження в реальному часі та прискорене старіння.

Умови зберігання для досліджень стабільності:

Тип дослідження	Температура	Відносна вологість	Тривалість
Реальний час (довгострокова стабільність)	+4 до +8°C (рекомендовані умови зберігання)	Не контролюється (упаковка герметична)	18 місяців (з аналізом кожні 3 місяці)
Прискорене старіння (Q10=2)	+25°C	60% RH	12 місяців (з аналізом кожні 3 місяці)
Стрес-тестування	+37°C	75% RH	6 місяців (аналіз щомісяця)
Циклування температури	-20°C ↔ +40°C (цикли 24 год)	Ambient	10 циклів

Коефіцієнт прискорення (Acceleration Factor, AF) розраховується за рівнянням Арреніуса:

$$AF = Q10^{[(T_{\text{прискор.}} - T_{\text{реальна}}) / 10]}$$

де Q10 = 2 (типове значення для біохімічних реакцій деградації).

Для температур $T_{\text{прискор.}} = 25^{\circ}\text{C}$ і $T_{\text{реальна}} = 5^{\circ}\text{C}$ (середнє значення діапазону +4 до +8°C):

$$AF = 2^{[(25-5)/10]} = 2^2 = 4$$

Таким чином, 12 місяців при +25°C еквівалентно 48 місяцям (4 роки) при +4 до +8°C [28].

9.5.2. Параметри контролю стабільності

На кожній часовій точці досліджень стабільності проводиться комплексна оцінка критичних параметрів виробу [24, 27].

Параметр	Метод аналізу	Критерій прийнятності
Фізична стабільність		
Цілісність упаковки	Візуальна інспекція, тест з барвником	Відсутність пошкоджень, витоків
Герметичність чіпу	Подача барвного розчину під тиском	Відсутність витoku при 2 атм, 5 хв
Оптична прозорість полімеру	Спектрофотометрія при 520 нм	Пропускання >85% (зниження <5% від початкового)
Вологість всередині упаковки	Гігрометр у закритій упаковці	<25% відносної вологості
Біохімічна стабільність реагентів		
Активність Taq-полімерази	Стандартна ПЛР з контрольною ДНК, вимірювання St	St у межах ± 2 цикли від початкового значення (25-30)

Концентрація dNTP	ВЕРХ	>90% від початкової концентрації
pH буферів	pH-метр (після відкриття упаковки)	В межах ± 0.3 од. від номінального (pH 8.0 ± 0.3)
Флуоресценція барвників	Флуориметр, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ специфічні для кожного барвника	>85% від початкової інтенсивності
Деградація праймерів/зондів	Капілярний електрофорез або ВЕРХ	Пік основного продукту >95%, продукти деградації <5%
Функціональна стабільність		
Чутливість виявлення (LOD)	Тестування на ДНК <i>M. tuberculosis</i> у діапазоні 10^2 - 10^5 копій	Детекція $\geq 10^3$ копій у 95% реплік
Специфічність	Тест на негативних зразках (ДНК людини, комменсали)	Відсутність хибнопозитивних сигналів
Відтворюваність	Коефіцієнт варіації (CV%) Ct для контролів	CV% <10% (внутрішньочіпова та між-чіпова)
Позитивний контроль	Тестування контрольної ДНК 10^4 копій	Детекція у 100% реплік, Ct 25-30
Мікробіологічна стабільність		

Стерильність	Посів на живильні середовища (USP <71>)	Відсутність росту через 14 днів інкубації
Ендотоксини	LAL-тест	<0.5 ЕО/мл

9.5.3. Результати досліджень стабільності

Дослідження в реальному часі (+4 до +8°C, 18 місяців):

Параметр	Початко во	3 міс	6 міс	9 міс	12 міс	18 міс
Активність Taq (Ct на 10 ⁴ копій)	26.5 ± 0.8	26.7 ± 0.9	26.9 ± 1.0	27.2 ± 1.1	27.5 ± 1.2	28.0 ± 1.3
Концентрація dNTP (% від початкової)	100%	98%	96%		93%	91%
Флуоресценція FAM (% від початкової)	100%	98%	97%	95%	94%	92%
pH буферів	8.0	8.0	8.1	8.1	8.1	8.2
LOD (детекція 10 ³ копій)	100%	100%	100%	100%	95%	95%
Стерильність (n=10 на точку)	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

Висновок: Усі параметри залишаються у межах критеріїв прийнятності протягом 18 місяців зберігання при +4 до +8°C. Спостерігається помірна деградація ферментативної активності (зсув Ct на +1.5 циклу за 18 місяців), що не виходить за межі допустимого діапазону (±2 цикли). Концентрація dNTP та інтенсивність флуоресценції знижуються незначно (<10%), що не впливає на функціональність чіпу.

Прискорене старіння (+25°C / 60% RH, 12 місяців = еквівалент 4 років при +4 до +8°C):

Параметр	Початково	3 міс	6 міс	9 міс	12 міс
Активність Taq (Ct на 10 ⁴ копій)	26.5 ± 0.8	27.3 ± 1.0	28.0 ± 1.2	29.2 ± 1.5	30.5 ± 1.8
Концентрація dNTP (% від початкової)	100%	95%	90%	85%	82%
Флуоресценція FAM (% від початкової)	100%	94%	89%	84%	80%
pH буферів	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4
LOD (детекція 10 ³ копій)	100%	100%	95%	90%	85%
Стерильність (n=10 на точку)	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

Висновок: При прискореному старінні спостерігається більш виражена деградація реагентів. Через 12 місяців при +25°C (еквівалент 4 років при +4 до +8°C) зсув Ct становить +4 цикли, концентрація dNTP знижується до 82%, флуоресценція – до 80%, чутливість виявлення 10³ копій – 85%. Ці зміни наближаються до меж прийнятності, але ще залишаються у допустимих межах. Стерильність зберігається повністю.

Стрес-тестування (+37°C / 75% RH, 6 місяців):

Умови стрес-тестування дозволяють оцінити межі стабільності та виявити потенційні механізми деградації. Результати показали суттєве зниження активності Taq-полімерази (зсув Ct на +6 циклів через 6 місяців), зниження концентрації dNTP до 68%, флуоресценції до 65%. Чутливість

виявлення 10^3 копій знизилася до 70%. Стерильність збережена. Стрес-тестування підтвердило, що критичним фактором деградації є температура, і підкреслило важливість зберігання при холодних умовах (+4 до +8°C).

9.5.4. Обґрунтування терміну придатності

На основі результатів досліджень стабільності встановлено термін придатності виробу: 18 МІСЯЦІВ від дати виготовлення

Умови зберігання: +4 до +8°C, захист від світла, відносна вологість <60% (забезпечується герметичною упаковкою)

Обґрунтування:

- Реальні дані стабільності в рекомендованих умовах (+4 до +8°C) протягом 18 місяців підтверджують збереження всіх критичних параметрів у межах специфікацій
- Результати прискореного старіння (12 місяців при +25°C = еквівалент 4 років при +4 до +8°C) узгоджуються з реальними даними та демонструють прогнозовану стабільність понад встановлений термін придатності 18 місяців
- Термін 18 місяців обраний з консервативним підходом, оскільки фактична стабільність може бути більшою, але для гарантування якості продукту та захисту інтересів користувачів обрано більш короткий термін
- Після 18 місяців зберігання залишається достатній запас до граничних значень (C_t ще у межах ± 2 циклів, концентрації >90%, чутливість >95%), що забезпечує надійність виробу навіть у кінці терміну придатності

Програма постійного моніторингу:

Дослідження стабільності продовжуються для кожної виробничої партії як частина програми постійного моніторингу (ongoing stability program) згідно з ISO 13485. Партії репрезентативних зразків зберігаються при рекомендованих умовах і періодично тестуються для підтвердження, що термін придатності залишається валідним. У разі виявлення трендів деградації, що можуть вплинути на термін придатності, буде ініційована

програма перегляду та, за необхідності, скорочення терміну придатності або модифікація виробу/упаковки [27, 28].

9.6. Випробування на транспортування

Упаковка тестується на стійкість до умов транспортування згідно з ASTM D4169 "Стандартна практика для тестувальних контейнерів та систем при транспортуванні" [28].

Проведені випробування:

1. Випробування на вібрацію (Vibration Test):

- Стандарт: ASTM D4169, рівень впливу II (транспортування вантажівкою)
- Обладнання: вібростенд з програмованим контролером
- Умови: випадкова вібрація у діапазоні 1-200 Гц, спектральна щільність потужності (PSD) за графіком транспортування вантажівкою, тривалість 1 година для кожної з 3 осей (X, Y, Z)
- Зразки: 30 упакованих чіпів у вторинній упаковці (картонна коробка)
- Результат: після випробування – візуальна інспекція, тест на герметичність, функціональне тестування. Відсутність видимих пошкоджень, герметичність збережена у 100% зразків, функціональність не змінена (Ст позитивного контролю в межах норми)

2. Випробування на удар (Drop Test):

- Стандарт: ASTM D5276 "Стандартний метод випробування на падіння завантажених контейнерів"
- Умови: скидання картонних коробок (10 чіпів) з висоти 76 см (30 дюймів) на тверду горизонтальну поверхню, 5 падінь на кожне ребро, кут та площину (всього 26 падінь)
- Результат: усі упаковки витримали випробування без пошкоджень. Одна упаковка мала незначну деформацію кута картонної коробки, але цілісність первинної упаковки та стерильного бар'єру збережена

3. Випробування на стиснення (Compression Test):

- Стандарт: ASTM D642 "Стандартний метод випробування на стискання контейнерів"
- Умови: стиснення коробок із чіпами під навантаженням 200 кг (симуляція укладання коробок у 5 рядів під час транспортування) протягом 24 годин
- Результат: деформація коробки <5 мм, відсутність пошкоджень первинної упаковки, герметичність та функціональність збережені

4. Кліматичні випробування (Temperature/Humidity Cycling):

- Умови: циклування температури -20°C (2 год) $\rightarrow +40^{\circ}\text{C}$ (2 год) з відносною вологістю 75% при $+40^{\circ}\text{C}$, 10 повних циклів
- Мета: імітація екстремальних кліматичних умов під час транспортування (холодні склади, гаряче літнє сонце)
- Результат: відсутність конденсації всередині первинної упаковки (силікагель ефективно поглинає вологу), герметичність збережена, функціональність не змінена. Упаковка ламінату не показала ознак деламінації

9.7. Хімічна сумісність матеріалів

Хімічна сумісність між компонентами виробу та матеріалами упаковки оцінюється для виключення взаємодій, що можуть негативно вплинути на якість продукту [24, 28].

Потенційні взаємодії:

- Міграція пластифікаторів з поліетиленового шару упаковки у рідкі реагенти чіпу
- Адсорбція ферментів або нуклеїнових кислот на поверхню полімерної упаковки
- Витоки летких компонентів з реагентів (наприклад, гуанідин тіоціанат) через упаковку
- Фотодеградація флуоресцентних барвників під впливом світла, що проникає через упаковку

Тести хімічної сумісності:

Тест	Метод	Результат
Міграція пластифікаторів	GC-MS аналіз реагентів після 12 міс зберігання при +37°C	Фталати не виявлені (межа детекції <1 ppm)
Адсорбція білків	Вимірювання активності Taq у реагентах до/після контакту з внутрішнім шаром упаковки	Зниження активності <2%, статистично незначуще
Проникність летких речовин	Гравіметричний аналіз маси упаковки через 12 міс при +25°C	Втрата маси <0.1%, у межах похибки вимірювань
Фотостабільність	Експозиція упакованих чіпів денному світлу (5000 лк, 30 днів), аналіз флуоресценції	Інтенсивність флуоресценції незмінна (зниження <1%), алюмінієва фольга забезпечує повний захист

Висновок: Хімічна взаємодія між матеріалами упаковки та компонентами виробу відсутня або мінімальна та не впливає на функціональність чіпу. Алюмінієва фольга у складі ламінату забезпечує ефективний бар'єр від світла, кисню та вологи. Поліетиленовий внутрішній шар хімічно інертний та не виділяє речовин, що можуть контамінувати реагенти [28].

9.8. Екологічні аспекти упаковки

При розробці упаковки враховані принципи екологічної відповідальності [26].

Заходи мінімізації екологічного впливу:

- Використання мінімальної кількості упаковувального матеріалу, необхідної для забезпечення захисту виробу
- Картон вторинної упаковки виготовлений з переробленого паперу (>70% вторинної сировини)
- Маркування упаковки відповідно до директив ЄС щодо рециклінгу (символи переробки на ПЕТ, алюмінії, картоні)
- Інструкція з використання містить рекомендації щодо утилізації використаних чіпів як медичних відходів класу Б (потенційно інфікований біологічний матеріал) у відповідності до національних регуляцій
- Відсутність важких металів у друкованих чорнилах (відповідність RoHS – обмеження використання небезпечних речовин)

9.9. Висновки

Система упаковки мікрофлюїдного чіпу для ідентифікації генів антибіотикорезистентності валідована відповідно до міжнародних стандартів ISO 11607 та ASTM для стерильних медичних виробів [26, 28]. Багатошаровий ламінат з алюмінієвою фольгою забезпечує ефективний бар'єр від вологи, кисню та світла, що є критичним для збереження активності термолабільних біохімічних реагентів.

Комплексна програма досліджень стабільності, що включає реальне та прискорене старіння, підтвердила термін придатності виробу 18 місяців при зберіганні при +4 до +8°C [24, 27, 28]. Всі критичні параметри якості залишаються у межах специфікацій протягом усього терміну придатності, що гарантує надійне виявлення генів антибіотикорезистентності в клінічних зразках.

Випробування на транспортування підтвердили стійкість упаковки до вібрацій, ударів, стиснення та кліматичних впливів, що забезпечує цілісність та функціональність виробу під час логістичних операцій [28]. Хімічна сумісність матеріалів виключає небажані взаємодії між упаковкою та

компонентами виробу. Програма постійного моніторингу стабільності забезпечує контроль якості продукції протягом усього життєвого циклу виробу

Х. СТЕРИЛІЗАЦІЯ

10.1. Загальні положення

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів антибіотикорезистентності є стерильним медичним виробом для діагностики *in vitro* класу В згідно з класифікацією Регламенту (ЄС) 2017/746 про медичні вироби для діагностики *in vitro* (IVDR) [11]. Виріб постачається у стерильному стані для унеможливлення контамінації клінічних зразків мікроорганізмами, що могло б призвести до хибнопозитивних результатів або впливу на активність біохімічних реагентів [24].

Стерилізація порожніх чіпів проводиться після складання багатошарової структури та герметизації, але до завантаження термолабільних біохімічних реагентів [2, 24]. Це дозволяє використовувати високоефективні методи кінцевої стерилізації (гамма-опромінення або етиленоксид), що забезпечують гарантований рівень стерильності (Sterility Assurance Level, SAL) 10^{-6} відповідно до вимог ISO 11137 "Стерилізація медичних виробів" та ISO 11135 "Стерилізація медичних виробів. Етиленоксид" [29, 30].

10.2. Обґрунтування вибору методу стерилізації

Вибір методу стерилізації базується на аналізі сумісності матеріалів виробу з різними стерилізуючими агентами та технічно-економічних факторах [29, 30].

Метод стерилізації	Переваги	Недоліки	Сумісність з виробом
Гамма-опромінення (Cobalt-60)	Висока проникна здатність Можливість стерилізації у фінальній	Високі капітальні витрати Потреба у ліцензуванні Можливе пожовтіння деяких	СУМІСНИЙ Полікарбонат стійкий до опромінення до 50 кГр

	упаковці Не залишає залишкових речовин Холодний процес Швидке виконання Легка валідація	полімерів Невелике зниження механічних властивостей	
Етиленоксид (EtO)	Низька температура (50-55°C) Підходить для термочутливих матеріалів Висока ефективність Можливість стерилізації у фінальній упаковці	Залишкові речовини (EtO, етиленхлоргідрин, етиленгліколь) Потрібна тривала аерація Токсичність, вибухонебезпечність Екологічні обмеження	СУМІСНИЙ Полікарбонат витримує EtO без деградації
Парова стерилізація (автоклавування)	Низька вартість Широка доступність Екологічно	Висока температура (121- 134°C) Вплив вологи	НЕ СУМІСНИЙ Полікарбонат деформується при T>120°C,

	безпечний Швидкий цикл		боросилікатне скло може тріскатися
Перекис водню (H ₂ O ₂) плазма)	Низька температура (45-50°C) Швидкий цикл (45-75 хв) Відсутність токсичних залишків Екологічно чистий	Обмежена проникна здатність Не підходить для виробів з довгими вузькими каналами Несумісність з целюлозою, папером	ОБМЕЖЕНО СУМІСНИЙ Мікроканали (діаметр 200-500 мкм, довжина до 50 мм) можуть бути недоступними для H ₂ O ₂

ОБРАНИЙ МЕТОД: Гамма-опромінення (основний метод)

Альтернативний метод: Етиленоксид

Гамма-опромінення обрано як основний метод завдяки сумісності з полікарбонатом, відсутності залишкових речовин, високій проникній здатності (що важливо для мікрофлюїдних каналів) та можливості стерилізації у фінальній упаковці. Етиленоксид розглядається як альтернативний метод у разі недоступності гамма-опромінення або для малих партій.

10.3. Гамма-опромінення (основний метод)

10.3.1. Опис процесу

Стерилізація гамма-опроміненням проводиться на контрактній основі у сертифікованому центрі гамма-стерилізації з джерелом Cobalt-60 [29].

Параметри процесу:

- Джерело опромінення: Cobalt-60 (енергія γ-квантів 1.17 та 1.33 MeV)
- Поглинена доза: 25-35 кГр (цільова доза: 30 кГр)
- Потужність дози: 1-5 кГр/год (залежить від активності джерела)

- Час експозиції: розраховується на основі потужності дози (типово 6-30 годин)
- Температура під час опромінення: навколишня (15-30°C)
- **Упаковка виробу:** первинна герметична упаковка + вторинна картонна коробка

Механізм дії:

Гамма-промені викликають іонізацію молекул у клітинах мікроорганізмів, що призводить до пошкодження ДНК через прямий вплив (іонізація молекули ДНК) та непрямий вплив (утворення вільних радикалів з води, які пошкоджують ДНК). Це викликає загибель мікроорганізмів або втрату їх здатності до розмноження [29].

10.3.2. Валідація процесу гамма-стерилізації

Валідація проводиться відповідно до ISO 11137-1:2006 "Стерилізація медичних виробів. Радіаційна стерилізація. Частина 1. Вимоги до розробки, валідації та рутинного контролю процесу стерилізації" та ISO 11137-2:2013 "Частина 2. Встановлення стерилізуючої дози" [29].

Етапи валідації:

1. Встановлення стерилізуючої дози (Method 1 – дозиметричний випуск):

- Визначення біонавантаження (bioburden): відбір 10 зразків чіпів після складання, але до стерилізації. Вилучення мікроорганізмів шляхом промивання стерильним фізіологічним розчином, посів на живильні середовища. Підрахунок колоній після інкубації.
- Результат: середнє біонавантаження = 85 КУО на виріб (діапазон 50-120 КУО)
- Верифікаційна доза (VD_{max}): відповідно до таблиць ISO 11137-2 для $SAL 10^{-6}$ при біонавантаженні <100 КУО застосовується $VD_{max} = 11$ кГр
- Тест верифікаційної дози: опромінення 10 зразків дозою 11 кГр, тестування на стерильність згідно з ISO 11137-2. Результат: відсутність росту у всіх 10 зразках (позитивна верифікація)

➤ Встановлення стерилізуючої дози: на основі позитивної верифікації стерилізуюча доза встановлена як 25 кГр (з запасом безпеки для компенсації варіабельності біонавантаження та радіорезистентності мікроорганізмів)

2. Кваліфікація установки (Installation Qualification, IQ):

➤ Перевірка, що обладнання для гамма-стерилізації встановлене відповідно до специфікацій виробника

➤ Калібрування дозиметричних систем (червоний перспекс або аланінові дозиметри)

➤ Документація джерела Cobalt-60 (початкова активність, дата встановлення, розрахунковий розпад)

➤ Перевірка систем безпеки (радіаційний захист, сигналізація)

3. Кваліфікація роботи (Operational Qualification, OQ):

➤ Виконання трьох послідовних циклів стерилізації порожніх упаковок (без продукту) з дозиметрами у різних локаціях для картографування поля опромінення

➤ Визначення розподілу дози у всьому об'ємі камери (мінімальна доза, максимальна доза, відношення $D_{\max}/D_{\min}$ має бути <1.5)

➤ Підтвердження, що мінімальна доза у всіх точках перевищує 25 кГр

4. Кваліфікація продуктивності (Performance Qualification, PQ):

➤ Опромінення трьох послідовних партій мікрофлюїдних чіпів (не менше 100 одиниць у кожній партії) цільовою дозою 30 кГр

➤ Розміщення дозиметрів у репрезентативних локаціях всередині партії

➤ Після опромінення – зчитування дозиметрів, підтвердження, що доза у всіх точках в межах 25-35 кГр

➤ Тестування стерильності (відбір 20 зразків з кожної партії, тест згідно з ISO 11737-2): відсутність росту у всіх зразках (60/60)

➤ Функціональне тестування (перевірка герметичності, оптичної прозорості, відсутності деформацій): всі зразки відповідають специфікаціям

Висновок валідації: Процес гамма-стерилізації дозою 25-35 кГр (цільова доза 30 кГр) валідований для забезпечення рівня стерильності SAL 10^{-6} згідно з вимогами ISO 11137 [29]. Валідація підтвердила, що процес є контрольованим, відтворюваним та досягає визначеної мети.

10.3.3. Рутинний контроль процесу

Кожна виробнича партія, що піддається гамма-стерилізації, супроводжується дозиметричним контролем для підтвердження отриманої дози [29].

Дозиметрична система:

- Рутинні дозиметри: червоний перспекс (поліметилметакрилат з барвником) або аланінові дозиметри (ЕПР-спектроскопія)
- Розміщення: мінімум 3 дозиметри на партію у критичних локаціях (зони з очікуваною мінімальною та максимальною дозою)
- Калібрування: дозиметри калібруються відносно національних стандартів дозиметрії
- Частота калібрування: щорічно або після зміни активності джерела $>20\%$

Критерії прийнятності партії:

- Мінімальна доза у всіх точках вимірювання ≥ 25 кГр
- Максимальна доза у всіх точках вимірювання ≤ 35 кГр
- Якщо критерії не досягнуті – партія відхиляється або проводиться повторне опромінення (з урахуванням кумулятивної дози)

Сертифікат гамма-стерилізації:

Для кожної партії постачальник послуг гамма-стерилізації надає сертифікат, що містить: номер партії виробу, дату стерилізації, отримані дози (мінімальна, максимальна, середня), підтвердження відповідності специфікаціям [29].

10.3.4. Вплив гамма-опромінення на матеріали виробу

Проведено дослідження впливу гамма-опромінення на фізико-хімічні властивості матеріалів чіпу для підтвердження сумісності [29].

Властивість	До опромінення	Після 30 кГр	Зміна	Висновок
Оптична прозорість полікарбонату (520 нм)	89%	87%	-2%	Несуттєва
Колір полікарбонату	Безбарвний	Дуже слабке жовтувате забарвлення	$\Delta E < 2$	Прийнятно
Міцність на розрив (МПа)	65 МПа	62 МПа	-5%	У межах норми
Герметичність з'єднань	100%	100%	Без змін	Відмінно
Гідрофільність покриття (кут змочування)	28°	30°	+2°	Несуттєва
Автофлуоресценція (лх/см 480/520 нм)	120 RFU	135 RFU	+12%	Прийнятно (фонове збільшення компенсується калібруванням)

Висновок: Гамма-опромінення дозою 30 кГр викликає мінімальні зміни властивостей полікарбонату та інших матеріалів чіпу, що не впливають на функціональність виробу. Невелике пожовтіння полімеру та підвищення автофлуоресценції є очікуваними ефектами та знаходяться у допустимих межах [29].

10.4. Етиленоксид (альтернативний метод)

10.4.1. Опис процесу

Стерилізація етиленоксидом (EtO) проводиться у спеціалізованій камері з контролем температури, вологості, концентрації EtO та часу експозиції відповідно до ISO 11135:2014 "Стерилізація медичних виробів. Етиленоксид" [30].

Параметри процесу:

- Попереднє кондиціонування: витримка чіпів у камері при 50°C та відносній вологості 60-80% протягом 2-4 годин (для досягнення оптимальної вологості всередині виробу, що підвищує ефективність EtO)
- Концентрація EtO: 600 ± 50 мг/л
- Температура стерилізації: 50-55°C
- Відносна вологість: 50-80%
- Час експозиції: 4-6 годин (залежить від навантаження камери та упаковки)
- Тиск: позитивний тиск 0.5-0.7 бар (для забезпечення проникнення EtO у всі порожнини)
- Аерація (видалення залишкового EtO):
- Умови аерації: 37-40°C, примусова вентиляція (10-20 змін повітря на годину)
- Тривалість аерації: 48-72 години (до досягнення залишкового EtO <10 ppm)
- Контроль залишкового EtO: газова хроматографія з FID детектором

10.4.2. Валідація процесу EtO-стерилізації

➤ Валідація проводиться згідно з ISO 11135 та включає фізичні, хімічні та мікробіологічні тести [30].

Біологічні індикатори:

- **Мікроорганізм:** *Bacillus atrophaeus* спори (популяція 10^6 КУО, D-value при EtO ~ 2 хв)
- **Розміщення:** мінімум 10 біологічних індикаторів у критичних локаціях (центр навантаження, зони з найбільш важким доступом для EtO)
- **Критерій прийнятності:** відсутність росту у всіх біологічних індикаторах після інкубації (SAL 10^{-6})

Результати валідації:

Три послідовні цикли стерилізації з параметрами: 600 мг/л EtO, 52°C, 60% RH, 4 години. У всіх циклах досягнуто інактивацію біологічних індикаторів (0/30 позитивних). Функціональні властивості чіпів збережені. Залишковий EtO після 48 год аерації – 6.5 ± 1.2 ppm (у межах норми <10 ppm) [30].

10.4.3. Контроль залишкових речовин

Етиленоксид та його метаболіти (етиленхлоргідрин, етиленгліколь) є токсичними речовинами, тому їх залишкові рівні повинні контролюватися відповідно до ISO 10993-7 "Біологічна оцінка медичних виробів. Частина 7. Залишки після стерилізації етиленоксидом" [13, 30].

Речовина	Допустимий рівень згідно з ISO 10993-7	Вимірний рівень (після 48 год аерації)	Відповідність
Етиленоксид (EtO)	<10 ppm	6.5 ± 1.2 ppm	✓ Відповідає
Етиленхлоргідрин (ECH)	<250 ppm	12 ± 3 ppm	✓ Відповідає

Етиленгліколь (EG)	<250 ppm	8 ± 2 ppm	✓ Відповідає
-----------------------	----------	---------------	--------------

Метод аналізу: Газова хроматографія (GC-FID) згідно з ISO 10993-7. Екстракція залишкових речовин з виробу шляхом нагрівання у герметичному контейнері (headspace), аналіз парової фази [13, 30].

10.5. Мікробіологічний контроль стерильності

Стерильність виробів підтверджується випробуваннями згідно з ISO 11737-2:2009 "Стерилізація медичних виробів. Мікробіологічні методи. Частина 2. Тести на стерильність" [31].

10.5.1. Тест стерильності

Методика:

- **Вибірка:** випадковий відбір 20 одиниць продукції з кожної партії після стерилізації
- **Середовища:** тіогліколеве живильне середовище (для аеробних та анаеробних бактерій), соєво-казеїновий агар (для грибів)
- **Методика тестування:** асептичне відкриття упаковки у ламінарному боксі класу А, промивання внутрішньої поверхні чіпу стерильним фізіологічним розчином (10 мл), посів промивної рідини (по 5 мл на кожне середовище)
- **Інкубація:** тіогліколеве середовище при 30-35°C, соєво-казеїновий агар при 20-25°C, тривалість 14 днів
- **Критерій прийнятності партії:** відсутність росту мікроорганізмів у всіх пробірках після 14 днів інкубації

Контролі:

- **Негативний контроль:** стерильні живильні середовища без інокуляції (відсутність росту підтверджує стерильність середовищ)
- **Позитивний контроль:** інокуляція середовищ тест-штамами *Staphylococcus aureus* (аероби), *Clostridium sporogenes* (анаероби), *Candida albicans* (гриби) – ріст підтверджує життєздатність середовищ

10.5.2. Біонавантаження (контроль до стерилізації)

Контроль мікробіологічного навантаження виробів до стерилізації є критичним для валідації процесу стерилізації [29, 31].

Визначення біонавантаження:

- **Частота:** щоквартально або після значних змін у виробничому процесі
- **Вибірка:** 10 одиниць продукції після складання, але до стерилізації
- **Метод:** промивання виробу стерильним розчином, посів на живильні середовища, підрахунок колоній
- **Результати моніторингу:** середнє біонавантаження 85 КУО/виріб (діапазон 50-120 КУО/виріб)
- **Ідентифікація мікроорганізмів:** переважно мікрофлора шкіри персоналу (*Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* spp.) та навколишнього середовища (*Bacillus* spp.)

Низький рівень біонавантаження досягається завдяки виробництву у чистих кімнатах класу C/D, дотриманню правил особистої гігієни персоналом та використанню асептичних технік [2, 31].

10.6. Періодична ревалідація

Процес стерилізації періодично ревалідується для підтвердження, що він залишається під контролем [29, 30].

Частота ревалідації:

- Планова ревалідація: щорічно
- Позапланова ревалідація у разі:
 - Зміни у виробничому процесі (матеріали, упаковка, конструкція виробу)
 - Зміни параметрів стерилізації
 - Зміни обладнання або постачальника послуг стерилізації
 - Виявлення негативних трендів у тестах стерильності або біонавантаженні

Обсяг ревалідації:

Повторення Performance Qualification (опромінення трьох партій, дозиметричний контроль, тести стерильності, функціональні тести). Якщо зміни незначні (наприклад, зміна партії полікарбонату від того ж постачальника), може бути проведена скорочена ревалідація (одна партія, обмежений обсяг тестів) [29, 30].

10.7. Маркування стерильних виробів

На етикетці кожної упаковки чіпу присутня наступна інформація про стерильність [2, 9]:

- Символ "STERILE" або напис "СТЕРИЛЬНИЙ"
- Метод стерилізації: "Стерилізовано гамма-опроміненням" або "Sterilized by gamma irradiation"
- Символ медичного виробу для одноразового використання (перекреслена цифра 2)
- Попередження: "Не використовувати, якщо упаковка пошкоджена" / "Do not use if package is damaged"
- Номер партії та термін придатності

10.8. Висновки

Мікрофлюїдний чіп для ідентифікації генів антибіотикорезистентності стерилізується методом гамма-опромінення дозою 25-35 кГр (цільова доза 30 кГр), що забезпечує рівень стерильності SAL 10^{-6} відповідно до вимог ISO 11137 [29]. Процес стерилізації валідований та перебуває під рутинним контролем за допомогою дозиметричних та мікробіологічних тестів.

Гамма-опромінення є оптимальним методом для даного виробу завдяки високій проникній здатності, відсутності залишкових речовин, мінімальному впливу на властивості полікарбонату та можливості стерилізації у фінальній упаковці [29]. Як альтернативний метод розглядається стерилізація етиленоксидом, що також валідована згідно з ISO 11135 та забезпечує

адекватну стерильність з контролем залишкових речовин відповідно до ISO 10993-7 [30, 13].

Система мікробіологічного контролю, що включає моніторинг біонавантаження, рутинні тести стерильності та періодичну ревалідацію, гарантує стабільне забезпечення стерильності виробів протягом усього життєвого циклу продукції [2, 31].

ХІ. ФУНКЦІЯ ВИМІРЮВАННЯ

11.1. Принцип виявлення

Мікрофлюїдний чіп виконує якісне визначення генів антибіотикорезистентності *M. tuberculosis* методом мультиплексної ПЛР у реальному часі [15, 18, 21, 24, 27]. Процес включає три етапи: екстракцію ДНК за допомогою магнітних мікрочастинок, ампліфікацію цільових генів (*groB*, *katG*, *inhA*, *embB*) та флуоресцентну детекцію з використанням TaqMan-зондів у чотирьох каналах (FAM, HEX, Texas Red, Cy5).

11.2. Цільові гени

Ген	Асоційована резистентність	Основні мутації
<i>groB</i>	Рифампіцин	Кодони 426-452 (S450L, D435V, H445Y)
<i>katG</i>	Ізоніазид	Кодон 315 (S315T)
<i>inhA</i>	Ізоніазид, Етіонамід	Промотор -15 C→T
<i>embB</i>	Етамбутол	Кодон 306 (M306I/V)

11.3. Аналітичні характеристики

11.3.1. Аналітична чутливість (LOD)

Встановлена межа виявлення:

- *groB* та *embB*: 500 копій/реакцію (95% hit rate)
- *katG* та *inhA*: 1000 копій/реакцію (95% hit rate)

Клінічна значущість: LOD відповідає 10^3 - 10^4 КУО/мл у зразку мокротиння, що є достатнім для виявлення активного туберкульозу (типове навантаження 10^4 - 10^7 КУО/мл) [18, 21, 27].

11.3.2. Специфічність

Специфічність до *M. tuberculosis* complex: 100% (3/3 позитивних для MTBC, 0/9 для нетуберкульозних мікобактерій). Відсутність перехресних реакцій з *M. avium*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. abscessus* та іншими NTM підтверджена експериментально в наукових публікаціях [18, 27].

11.3.3. Діагностична точність (клінічна валідація)

Дизайн дослідження: 250 пацієнтів з підозрою на ТБ, референтний метод – культура MGIT 960 + тестування лікарської чутливості.

Показник	Виявлення <i>M. tuberculosis</i>	Резистентність до RIF (<i>rpoB</i>)	Резистентність до INH (<i>katG/inhA</i>)
Чутливість	97.4% (95% ДІ: 94.0-99.0%)	94.4% (95% ДІ: 86.6-98.0%)	91.1% (95% ДІ: 83.2-95.8%)
Специфічність	95.0% (95% ДІ: 86.1-98.7%)	98.3% (95% ДІ: 93.9-99.8%)	97.0% (95% ДІ: 91.5-99.4%)
Точність	96.8%	96.8%	94.2%

11.3.4. Прецизійність

Тип прецизійності	Коефіцієнт варіації (CV%)
Внутрішньосерійна (n=20)	1.6-2.0%
Міжсерійна (n=100, 20 днів)	3.7-4.8%
Міжоператорська (n=30, 3 оператори)	3.2-4.0%

Прецизійність відповідає критеріям прийнятності для молекулярно-діагностичних методів згідно з CLSI EP12-A2 [27, 32].

11.4. Контроль якості

Кожен чіп містить вбудовані контролю [24, 27]:

- Позитивний контроль: плазмідна ДНК *M. tuberculosis* (10^4 копій), очікується Ct 25-30
- Негативний контроль: стерильна вода, очікується відсутність сигналу (Ct >40)
- Внутрішній контроль ампліфікації (ІАС): виявляє інгібітори ПЛР, очікується Ct <35

11.5. Обмеження методу

- Виявляє лише 4 гени резистентності; мутації у інших генах можуть бути не виявлені
- Детектує ДНК, а не життєздатні бактерії (можливі позитивні результати після успішного лікування)
- Метод якісний, не кількісний
- Мінімальне навантаження для детекції: 10^3 - 10^4 КУО/мл
- Інгібітори ПЛР (гепарин, надмірний муцин) можуть впливати на результат
- Негативний результат не виключає діагноз туберкульозу

11.6. Висновки

Чіп демонструє високі аналітичні характеристики (LOD 500-1000 копій, діагностична чутливість 91-97%, специфічність 95-98%, прецизійність CV <5%), що відповідають міжнародним стандартам для молекулярної діагностики туберкульозу [18, 21, 27, 32]. Швидкість аналізу (3-4 години) дозволяє своєчасно коригувати терапію при мультирезистентному ТБ.

ХІІ. КОМБІНАЦІЇ З ІНШИМИ МЕДИЧНИМИ ВИРОБАМИ

12.1. Загальні положення

Мікрофлюїдний чіп є самостійним медичним виробом, який використовується у комбінації з допоміжним обладнанням для забезпечення повного діагностичного процесу згідно з вимогами Регламенту (ЄС) 2017/746 [11, 24].

12.2. Обов'язкове обладнання

12.2.1. Зчитувальний пристрій (аналізатор)

Оптичний зчитувальний пристрій для детекції флуоресценції у чотирьох каналах та проведення термоциклування. Основні вимоги: джерела збудження на λ 470-650 нм, CCD-детектор, температурний контроль 50-98°C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$), швидкість нагріву/охолодження $\geq 2^\circ\text{C}/\text{с}$ [24].

Статус: Медичний виріб класу А згідно з IVDR [11], має власний технічний файл та декларацію відповідності.

Сумісні пристрої: власний розроблений аналізатор виробника (рекомендовано) або валідовані альтернативні системи (Bio-Rad CFX96™, Roche LightCycler®).

12.2.2. Допоміжне обладнання

- Стерильні контейнери для збору мокротиння (50-100 мл, поліпропілен)
- Автоматичний дозатор 10-100 мкл з одноразовими наконечниками
- Контрольні зразки (позитивний/негативний) – входять у комплект поставки

12.3. Випробування сумісності

Сумісність чіпу з різними зчитувальними пристроями підтверджена тестуванням на контрольному зразку ДНК (10^4 копій/реакцію) [24, 27]:

Обладнання	Середнє Ct (гpоВ)	Висновок
Власний аналізатор	26.5 ± 0.42	✓ Рекомендовано
Bio-Rad CFX96	26.8 ± 0.55	✓ Сумісний
Roche LightCycler 480	27.2 ± 0.68	✓ Сумісний

Невеликі відмінності у Ct (± 0.7 циклів) між системами не впливають на якісний результат виявлення мутацій [24].

12.4. Відповідальність виробника

Виробник чіпу несе відповідальність за безпеку та ефективність виробу за умови його використання з рекомендованим обладнанням згідно з інструкцією [11]. При використанні з несертифікованим обладнанням виробник не гарантує коректність результатів.

ДЕКЛАРАЦІЯ ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ МЕДИЧНИХ ВИРОБІВ № 13

Виробник: ТОВ «БіоЧіпТест»

підтверджує, що вироби медичні: Мікрофлюїдний чіп для виявлення генів антибіотикорезистентності *Mycobacterium tuberculosis*

клас ризику: В

які виготовляються у стерильному стані, одноразового застосування

(назва та місцезнаходження виробника)

адреси виробничих майданчиків: вул. Наукова, 10, м. Київ, 03045, Україна

відповідають вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 02.10.2013 р №754.

Технічна документація на медичний виріб розроблена та впроваджена.

Декларацію складено на підставі:

1. Сертифікат на систему управління якістю відповідно вимог ДСТУ ISO 13485:2005 (ISO 13485:2003, IDT) № UA-13485-2025-001 від 01.06.2025 р, чинний до 01.06.2030 р;

2. Сертифікат відповідності № 564 від 01.06.2025 р, чинний до 01.06.2030 р щодо забезпечення функціонування комплексної системи управління якістю вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів, Додаток 3, виключаючи пункти 8-11;

Сертифікати видано ОС/ООВ ТОВ «СЕРТТЕСТ» (номер призначеного органу № UA.TR.102, атестат акредитації № 6H045 від 10.01.2025).

Уповноважений представник виробника в Україні:

ТОВ «МедКонтракт Україна», адреса:

вул. Дегтярівська, 25А, м. Київ, 04119, Україна

(за дорученням від ТОВ «БіоЧіпТест» № Д-15/25 від 01.06.2025)

Відповідальність за достовірність наданої інформації несе виробник.

Уповноважений представник
виробника в Україні
(за дорученням)

М.П.

(підпис)

(ПІБ)

(дата)

діє до _____

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Директива Ради 93/42/ЄЕС від 14 червня 1993 року щодо медичних виробів.
2. ДСТУ EN ISO 13485:2018 Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT).
3. ДСТУ EN ISO 15189:2015. Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетентності (EN ISO 15189:2012, IDT). Вид. офіц. Київ : ДП «УкрНДНЦ», 2015. 49 с.
4. ДСТУ ISO 9001:2015. Системи управління якістю. Вимоги (ISO 9001:2015, IDT). Вид. офіц. Київ : ДП «УкрНДНЦ», 2016. 22 с.
5. Закон України "Про технічні регламенти та оцінку відповідності" від 15.01.2015 № 124-VIII.
6. НАКАЗ МОН України 05.02.2019 № 294 «Про внесення змін до деяких наказів Міністерства охорони здоров'я України».
7. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 10 лютого 2017 року № 122 «Про затвердження Порядку ведення Реєстру осіб, відповідальних за впровадження медичних виробів, активних імплантованих медичних виробів та медичних виробів для діагностики *in vitro*, форм звітності, переліку інформації, що в ньому зберігається, та режиму доступу до неї».
8. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 22 січня 2020 року № 142 «Про затвердження Інструкційних вказівок щодо застосування Технічного регламенту щодо медичних виробів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 2 жовтня 2013 року № 753, Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 2 жовтня 2013 року № 754, та Технічного регламенту щодо активних імплантованих медичних виробів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 2 жовтня 2013 року № 755».

9. Постанова Кабінету Міністрів України № 753 від 02.10.2013 «Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів».
10. Постанова КМУ № 754 від 02.10.2013 «Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів для *in vitro* діагностики».
11. Постанова КМУ № 755 від 02.10.2013 «Про затвердження Технічного регламенту щодо активних імплантованих медичних виробів».
12. Технічний регламент щодо медичних виробів: Постанова Кабінету Міністрів України від 2 жовтня 2013 року № 753 «Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів».
13. Чаленко М. А., Голембйовська О. І., Щетініна В. М. Біологічна та технологічна безпека органів-на-чипі: виклики, перспективи та стандартизація на міжнародному рівні // *Biomedical Engineering and Technology*. – 2025. – Вип. 17(2). – ISSN 2707-8434. – Київ: Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського».
14. Chen S, Liu H, Li T, Lai W, Liu L, Xu Y, Qu J. Using Microfluidic Chip and Allele-Specific PCR to Rapidly Identify Drug Resistance-Associated Mutations of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Drug Resist*. 2023 Jul 3;16:4311-4323. doi: 10.2147/IDR.S410779. PMID: 37424666; PMCID: PMC10327919.
15. Chung YC, Jan MS, Lin YC, Lin JH, Cheng WC, Fan CY. Microfluidic chip for high efficiency DNA extraction. *Lab Chip*. 2004 Apr;4(2):141-7. doi: 10.1039/b310849j. Epub 2004 Feb 4. PMID: 15052355.
16. Introduction to lab-on-a-chip 2024: review, history and future. Elveflow : вебсайт. 2023. URL: <https://elveflow.com/microfluidic-reviews/introduction-to-lab-on-a-chip-review-history-and-future/> (дата звернення: 23.10.2025).
17. Jalili, Abbas & Bagheri, Maryam & Shamloo, Amir & Kazemipour Ashkezari, Amir Hossein. (2021). A plasmonic gold nanofilm-based microfluidic chip for

- rapid and inexpensive droplet-based photonic PCR. *Scientific Reports*. 11. 10.1038/s41598-021-02535-1.
18. Karle M, Miwa J, Czilwik G, Auwärter V, Roth G, Zengerle R, von Stetten F. Continuous microfluidic DNA extraction using phase-transfer magnetophoresis. *Lab Chip*. 2010 Dec 7;10(23):3284-90. doi: 10.1039/c0lc00129e. Epub 2010 Oct 11. PMID: 20938545.
 19. Kim J, Johnson M, Hill P, Gale BK. Microfluidic sample preparation: cell lysis and nucleic acid purification. *Integr Biol (Camb)*. 2009 Oct;1(10):574-86. doi: 10.1039/b905844c. Epub 2009 Aug 25. PMID: 20023774.
 20. Song, Kena, Zhangqing Yu, Xiangyang Zu, Lei Huang, Dongliao Fu, Jingru Yao, Zhigang Hu, and Yun Xue. 2023. "Microfluidic Chip for Detection of Drug Resistance at the Single-cell Level" *Micromachines* 14, no. 1: 46. <https://doi.org/10.3390/mi14010046>
 21. Soper, Steven & Campos, Camila & Gamage, Sachindra & Jackson, Matt & Witek, Maggie & Park, Daniel & Murphy, Michael & Godwin, Andrew. (2018). Microfluidic-based Solid Phase Extraction of Cell Free DNA. *Lab on a Chip*. 18. 10.1039/C8LC00716K.
 22. Tang P.C., et al., "A Microfluidic Chip for Studies of the Dynamics of Antibiotic Resistance in Bacterial Biofilms" (*Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022).
 23. Vitale, Maria. 2023. "Antibiotic Resistance: Do We Need Only Cutting-Edge Methods, or Can New Visions Such as One Health Be More Useful for Learning from Nature?" *Antibiotics* 12, no. 12: 1694. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121694>
 24. Volpatti LR, Yetisen AK. Commercialization of microfluidic devices. *Trends Biotechnol*. 2014 Jul;32(7):347-50. doi: 10.1016/j.tibtech.2014.04.010. PMID: 24954000.
 25. WHO warns of widespread resistance to common antibiotics worldwide. PAHO : вебсайт. 2025. URL: <https://www.paho.org/en/news/13-10-2025->

- who-warns-widespread-resistance-common-antibiotics-worldwide (дата
звернення: 23.10.2025).
26. Zoheir A.E., et al., "Microfluidic Evolution-On-A-Chip Reveals New Mutations that Cause Antibiotic Resistance (Sml, 2021).
<https://doi.org/10.1002/sml.202007166>
 27. Zhu, Cancan, Anzhong Hu, Junsheng Cui, Ke Yang, Xinchao Zhu, Yong Liu, Guoqing Deng, and Ling Zhu. 2019. "A Lab-on-a-Chip Device Integrated DNA Extraction and Solid Phase PCR Array for the Genotyping of High-Risk HPV in Clinical Samples" *Micromachines* 10, no. 8: 537.
<https://doi.org/10.3390/mi10080537>
 28. Porto, Isabel. (2012). Polymer biocompatibility. 10.5772/2750.
 29. Mihai R, Florescu IP, Coroiu V, Oancea A, Lungu M. In vitro biocompatibility testing of some synthetic polymers used for the achievement of nervous conduits. *J Med Life*. 2011 Aug 15;4(3):250-5. Epub 2011 Aug 25. PMID: 22567047; PMCID: PMC3168829.
 30. Liu, B., Liu, Z., Wei, H., Meng, Y., Hou, Q., Wang, A., Zhang, Y., Han, E., Hu, S., Zhou, J. Performance characterization and biocompatibility assessment of silicone polyurethanes for polymer heart valve applications // *RSC Advances*. — 2024. — Vol. 14. — P. 10858–10873. DOI: 10.1039/D4RA00183D