

# INNO-LIA ANA Update



## Производство:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

## Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

Fujirebio Italia S.r.l.

Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH

Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

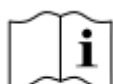
Fujirebio Iberia S.L.

Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL

Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

**Для получения информации на других языках посетите сайт:**



[www.e-labeling.eu/FRI77525](http://www.e-labeling.eu/FRI77525)

## **+800 135 79 135**

00800 161 220 577 99  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
0800 142 064 866  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5693  
0800 0100 567

## **ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## **+31 20 794 7071**

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

## **Необъединенная Европа**

США  
Канада  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая Зеландия,  
Россия

© **Fujirebio Europe N.V.**

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                                                                     |                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы.....                                                                                           | 2                                      |
| Предполагаемое использование.....                                                                                   | 3                                      |
| Принцип проведения теста.....                                                                                       | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты.....                                                                                                       | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| <i>Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения</i> <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |                                        |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                                                           | 5                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                                                        | 5                                      |
| Образцы.....                                                                                                        | 6                                      |
| Примечания и меры предосторожности.....                                                                             | 6                                      |
| Процедура проведения теста.....                                                                                     | 7                                      |
| Протокол ручного выполнения теста.....                                                                              | 7                                      |
| Автоматизированные процедуры проведения теста .....                                                                 | 8                                      |
| <i>Инструкции по промывке</i> .....                                                                                 | 8                                      |
| <i>Инструкции по инкубации</i> .....                                                                                | 9                                      |
| Результаты .....                                                                                                    | 9                                      |
| <i>Валидация</i> .....                                                                                              | 9                                      |
| <i>Интерпретация результатов</i> .....                                                                              | 9                                      |
| <i>Интерпретация с LiRAS для LIA ANA</i> .....                                                                      | 11                                     |
| Ограничения процедуры .....                                                                                         | 11                                     |
| Выполнение теста .....                                                                                              | 11                                     |
| <i>Чувствительность</i> .....                                                                                       | 11                                     |
| <i>Специфичность</i> .....                                                                                          | 12                                     |
| Товарные знаки .....                                                                                                | 12                                     |

**Используемые символы**

Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



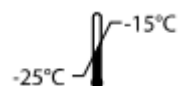
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



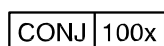
Ограничение температуры



Биологические риски



Содержит достаточное количество для тестов &lt;n&gt;



Конъюгат 100x



Отрицательный контроль



Конъюгат разбавитель

|                    |                        |
|--------------------|------------------------|
| SAMP DIL           | Разбавитель образца    |
| STOP SOLN          | Стоп решение           |
| STRIPS             | Полосы                 |
| SUBS BCIP/NBT 100x | Субстрат BCIP/NBT 100x |
| SUBS BUF           | Буферный субстрат      |
| WASH SOLN 5x       | Промывочный раствор    |
| DANGER             | Опасность              |
| LIA                | Линия иммуноанализа    |

### Предполагаемое использование

Оценка INNO-LIA ANA Обновление представляет собой линейный иммуноферментный анализ для обнаружения и идентификации тринадцати антинуклеарных антител (ANA) в сыворотке крови человека, для диагностики заболеваний соединительной ткани.

Обновление INNO-LIA ANA индивидуально определяет следующие ядерные антигены: Sm (SmB и SmD), RNP (RNP-70k, RNP-A, RNP-C), SSA (Ro52 и Ro60), SSB / La, центромера (Cenp-B), Scl-70 (ДНК-топоизомераза I), Jo- 1, рибосомный P и гистоны.

### Принцип проведения теста

Три рекомбинантных белка (SmB, RNP-70k, RNP-A, RNP-C, Ro52, SSB/La, Cenp-B, Топо-I, Jo-1) и синтетические пептиды (SmD и рибосомальный P) и природные белки (Ro60 и гистоны) нанесены дискретными линиями на нейлоновой полосе с пластиковой подложкой.

В дополнение к этим антигенам на каждой полоске нанесена одна контрольная линия.

Обновление INNO-LIA ANA основано на принципе иммуноферментного анализа. Тестируемый образец инкубируют в тест-лотке вместе с тест-полоской, покрытой множеством антигенов. Если они присутствуют в образце, специфические аутоантитела будут связываться с линиями аутоантигенов на полоске. После этого добавляется козий античеловеческий IgG, меченный щелочной фосфатазой, который будет связываться с любым ранее образованным комплексом аутоантиген/ аутоантитело. Инкубация с хромогеном BCIP / NBT (5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат / нитросиний тетразолий в диметилформамиде) дает темно-коричневый цвет, пропорциональный количеству специфических антител, присутствующих в образце. Развитие цвета останавливается серной кислотой.

Если образец не содержит специфических аутоантител, меченое антитело- человека не будет связываться с комплексом аутоантиген / аутоантитело, а будут отображаться только контрольная линия и слабый фоновый цвет.

### Реагенты

#### **Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения**

- При хранении при температуре 2-8°C тестовые реагенты стабильны до указанного срока годности. Не замораживайте реагенты.
- Все реагенты и пластиковую пробирку с тест-полосками необходимо вынуть из коробки и довести до комнатной температуры (15–25 ° C) за 30 минут до использования и вернуть в холодильник сразу после использования.
- Храните реагенты в оригинальных флаконах, которые необходимо закрыть для хранения.
- Изменение внешнего вида реагентов набора может указывать на нестабильность или порчу.
- С помощью набора можно провести 20 тестов.

Каждая упаковка содержит:

1. 1 прозрачная пластиковая пробирка с пробкой, содержащая осушитель и 20 полосок, покрытых ядерным антигеном. Неиспользованные полоски стабильны до истечения срока годности при хранении в оригинальной пробирке с осушителем при 2-8°C. Проявленные полоски следует хранить в темноте при комнатной температуре (15-25 ° C).
2. 1 флакон, содержащий 0,6 мл концентрированного конъюгата (козий античеловеческий IgG, меченный щелочной фосфатазой в Трис-буфере, содержащий стабилизаторы бычьего белка и 0,1% азид натрия в качестве консерванта), который необходимо развести в 100х разбавителе конъюгата перед использованием. Рабочий раствор конъюгата стабилен 18 часов при комнатной температуре, если держать в темноте при (15-25 ° C).

|                            |      |      |      |      |
|----------------------------|------|------|------|------|
| <b>Количество полосок</b>  | 5    | 10   | 15   | 20   |
| Конъюгат (мл)              | 0,12 | 0,22 | 0,32 | 0,42 |
| Разбавитель конъюгата (мл) | 12   | 22   | 32   | 42   |

3. 1 флакон, содержащий 8,5 мл контрольного образца (смесь человеческой плазмы, каждая из которых содержит антитела против одного или нескольких аутоантигенов, и нормальной человеческой сыворотки), предварительно разведенный 1/100 в разбавителе образца, содержащем аprotинин в качестве ингибитора протеазы и 0,1 % азида натрия в качестве консерванта.
4. 1 флакон, содержащий 60 мл разбавителя конъюгата (фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, стабилизаторы бычьего белка и 0,1% азид натрия в качестве консерванта).
5. 1 флакон, содержащий 0,6 мл концентрированного субстрата BCIP / NBT (5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат / нитросиний тетразолий в диметилформамиде), который необходимо развести в 100х буфере для субстрата перед использованием. Раствор субстрата стабилен в течение 18 часов при комнатной температуре (15–25 ° C) в темноте.

|                           |      |      |      |      |
|---------------------------|------|------|------|------|
| <b>Количество полосок</b> | 5    | 10   | 15   | 20   |
| Субстрат (мл)             | 0,12 | 0,22 | 0,32 | 0,42 |
| Субстратный буфер (мл)    | 12   | 22   | 32   | 42   |

6. 1 флакон, содержащий 120 мл субстратного буфера (Трис-буфер, содержащий хлорид натрия и 0,1% азид натрия в качестве консерванта).
7. 1 флакон, содержащий 60 мл разбавителя образца (фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы бычьего белка и 0,1% азид натрия в качестве консерванта).
8. 1 флакон, содержащий 60 мл стоп-раствора (0,1 моль / л серной кислоты).
9. 1 флакон, содержащий 80 мл концентрированного промывочного раствора (фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, детергент и 0,5% азид натрия в качестве консерванта) для 5-кратного разведения в дистиллированной или деионизированной воде. Разбавленный промывочный раствор стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8 ° C.

|                            |    |    |     |     |
|----------------------------|----|----|-----|-----|
| <b>Количество полосок</b>  | 5  | 10 | 15  | 20  |
| Промывочный раствор (мл)   | 12 | 24 | 36  | 48  |
| Дистиллированная вода (мл) | 48 | 96 | 144 | 192 |

10. 3 **инкубационных лотка** по 8 лотков в каждом в пластиковом пакете с мини-ручкой.
11. 1 пластиковая **карточка для чтения**.
12. 1 **отчетный лист данных**.



**Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы**

- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Пипетки с одноразовыми наконечниками на 10 мкл, от 20 до 200 мкл и от 200 до 1000 мкл соответственно.
- Орбитальный шейкер (диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм) или качалку (амплитуда 11 ° и более) (см. «Инструкции по инкубации»).
- Вortexный миксер или аналог
- Градуированные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Пинцет для работы с полосой.
- Перчатки.
- Таймер (1 час, читаемость 1 минута).
- Дополнительно:
  - Сухой инкубатор при 37 ° C.
  - Повторяющаяся пипетка вместе с одноразовыми флаконами для добавления серной кислоты, конъюгата, субстрата, промывочного раствора и разбавителя для образцов.
  - Вакуумный аспиратор, содержащий 5% раствор гипохлорита натрия.
  - Одноразовые флаконы для приготовления раствора конъюгата и субстрата.

**Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к **Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах.** Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



D

Опасность

SUBS BCIP/NBT 100x

Содержит N, N-диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис.  
(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксибифенил-4,4'-илен)  
дитетразолий дихлорид и метанол:

H312 + H332 H319 H360D

P261 P280 P201 P303 + P361 + P353 P305 + P351 + P338 P308 + P313

WASH SOLN 5x

H412 EUH032 P273

SUBS BUF CONJ 100x CONJ DIL SAMP DIL

EUH032

CONTROL CO

P280 P261 P362+P364

**Предупреждения об опасности**

H312+H332

H319

H360D

H412

EUH032

Вредно при контакте с кожей или при вдыхании.

Вызывает серьезное раздражение глаз.

Может нанести вред нерожденному ребенку.

Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.

При контакте с кислотами выделяется очень токсичный газ.

**Меры предосторожности**

P201

P261

P273

P280

Перед использованием получить специальные инструкции.

Не вдыхать туман / пары / аэрозоль.

Избегайте попадания в окружающую среду

Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица.

P303+P361+P353

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или принять душ].

P305+P351+P338

ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они есть и это легко сделать. Продолжайте полоскание.

P308+P313

В случае воздействия или обеспокоенности: обратиться за медицинской консультацией / помощью.

P362+P364

Снимите загрязненную одежду и постирайте ее перед повторным использованием.

- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
  - Образцы всегда должны рассматриваться как потенциально инфекционные.
  - Пороговый контроль оказался отрицательным по анти-ВИЧ-1 / ВИЧ-2, анти-ВГС, и HBsAg. Ни один метод тестирования не может полностью гарантировать, что продукты крови человека не будут передавать инфекционные агенты.
  - Необходимо использование средств индивидуальной защиты: носить перчатки и средства безопасности, очки при работе с опасными или инфекционными агентами.
  - С отходами следует обращаться в соответствии с инструкциями учреждения по утилизации отходов.
- Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные нормы по охране окружающей среды.

### Образцы

- Следует использовать человеческую сыворотку.
- Любые предварительные разведения реактивных образцов должны выполняться в нормальной сыворотке крови человека.
- Гепаринизированная плазма вызывает ошибочные результаты на наличие антигистона антитела и поэтому не должны использоваться.
- Липемические, гемолизированные и микробиологические образцы могут дать плохие результаты и не должны использоваться.
- Храните образцы при 2-8 ° C. Для хранения более одной недели заморозить по аликвотам. при -20 ° C или ниже.

### Примечания и меры предосторожности

- Этот набор должен использоваться только персоналом, обученным клинической лабораторной практике.
- Не используйте набор после истечения срока годности.
- Не смешивайте реагенты между наборами, если компоненты не имеют одинаковых номеров партий.
- Если замороженные реагенты хранить слишком близко к охлаждающему элементу, это может вызвать ошибочно полученные результаты!
- Все сосуды, используемые для приготовления растворов конъюгатов и субстратов, должны быть тщательно очищены, чтобы избежать загрязнения этих растворов.
- Избегайте микробного загрязнения реагентов и образцов.
- Перед использованием убедитесь, что образцы и контроли однородны.
- Используйте новый наконечник пипетки для каждого аликвотированного образца.

- Убедитесь, что тест-полоски помещены в лотки обратной стороной вниз. Номер на пластиковой подложке должен быть читаемым.
- Всегда держите полосы и манипулируйте ими с пластиковой подложкой.
- Никогда не касайтесь мембраны.
- Перед чтением полоски должны быть полностью сухими.
- Неиспользованные и проявленные полоски следует хранить вдали от яркого света и тепла.
- Не используйте лотки повторно.
- Не используйте полоски повторно.
- Не открывайте флаконы с образцами над лотком при добавлении образцов в разбавитель, чтобы избежать загрязнения.
- Надевайте перчатки во время проведения теста.
- Работайте «гигиенически»: избегайте чихания и кашля возле полосок.
- Не кладите бумагу на полоски, пока они влажные.

### **Процедура проведения теста**

Перед проведением теста прочтите примечания и меры предосторожности.

Перед использованием дайте всему тестируемому материалу нагреться до комнатной температуры (15-25 ° C).

### **Протокол ручного проведения теста**

1. Выберите поднос с необходимым количеством тестовых лотков, учитывая, что для каждого тестового прогона должен быть включен контроль отсечки. Во время пробного запуска желоба остаются в лотке и могут быть идентифицированы по одному краю.

2. Добавьте по 2 мл разбавителя образца в каждую ванну.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не пипетируйте разбавитель пробы в лоток для контрольной точки отсечки, так как контрольная проба уже предварительно разбавлена.

3. Добавьте 10 мкл образца или 2 мл контрольной точки в соответствующие лотки. Чтобы разрешить идентификацию образцов, запишите их в правильном порядке на отчетном листе. Возьмите необходимое количество полосок LIA и добавьте по 1 полосе в каждый тестовый лоток. Полоски размещаются в желобе обратной стороной вниз с помощью пинцета.

(номер на пластиковой подложке должен быть читаемым).

**ПОЛОСКИ ДОЛЖНЫ БЫТЬ ПОЛНОСТЬЮ ПОГРУЖЕНЫ.**

Инкубируйте в течение 1 часа  $\pm$  5 минут при комнатной температуре на шейкере или качалке (см. «Указания по инкубации»).

ПРИМЕЧАНИЕ. Приготовьте рабочий раствор конъюгата до окончания инкубации образца. (см. «Реагенты»).

4. Удалите жидкость (см. «Рекомендации по стирке»).

5. Промойте каждую полоску 3 раза промывочным раствором (см. «Рекомендации по отмывке»).

6. Добавьте по 2 мл рабочего раствора конъюгата в каждую пробирку.

Инкубируйте 30  $\pm$  5 минут при комнатной температуре (15–25 ° C) на шейкере или качалке (см. «Указания по инкубации»).

ПРИМЕЧАНИЕ. Приготовьте раствор субстрата до окончания инкубации конъюгата. (см. «Реагенты»).

7. Откачайте жидкость (см. «Указания по стирке»).

8. Промойте каждую полоску дважды промывочным раствором (см. «Инструкции по стирке») и один раз с буфером для субстрата (см. «Указания по отмывке»).

9. Добавьте по 2 мл раствора субстрата в каждый тестовый лоток.

**Инкубируйте** 30 минут  $\pm$  5 минут при комнатной температуре (15–25 ° C) на шейкере или качалке.

10. Аспирируйте жидкость, как описано выше.

11. Добавьте по **2 мл стоп-раствора** в каждый желоб.

**Инкубируйте** от 10 до 30 минут при комнатной температуре (15-25 ° C) на шейкере или качалке (см. «Указания по инкубации»).

12. **Удалите жидкость** (см. «Указания по промывке»).

13. **Извлеките** полоски из лотков и поместите их задней стороной вниз на впитывающую бумагу, используя пинцет. **Интерпретируйте** результаты, когда полоска полностью **высохнет**.

Чтобы ускорить процесс сушки, поместите полоски в сухой инкубатор при 37 ° C на 30 минут. Наклейте клейкую ленту только на пластиковую основу, а не на мембрану.

## Автоматизированные процедуры проведения теста

Инструменты и соответствующие протоколы доступны в Fujirebio Europe N.V.

(см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

## Инструкции по промывке

- Держите лоток под углом, чтобы вся жидкость стекала к одной стороне лотка (стороне непокрытой пластиковой основы полосок). См. рисунок 1

- Аспирируйте жидкость пипеткой, желательной прикрепленной к вакуумному аспиратору.

- Добавьте 2 мл промывочного раствора (см. «Реагенты») или буфера для субстрата (последняя стадия промывки после инкубации конъюгата) в каждую чашу и перемешивайте в течение 3 минут  $\pm$  30 секунд на шейкере или качалке.

- Аспирируйте жидкость пипеткой, удерживая лоток под углом, как описано выше.

Убедитесь, что вся жидкость откачана.

- Повторите эти шаги столько раз, сколько указано в процедуре тестирования.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Не позволяйте полоскам высыхать между этапами промывки.

- Убедитесь, что поверхность тест-полосок LIA не повреждена при аспирации.

- Следите за тем, чтобы не повредить поверхность тест-полосок во время аспирации.

- Убедитесь, что полоска полностью погружена в промывочный раствор, чтобы

обеспечить тщательную промывку.

- При необходимости отрегулируйте скорость шейкера или качалки (см. «Инструкции по инкубации»).

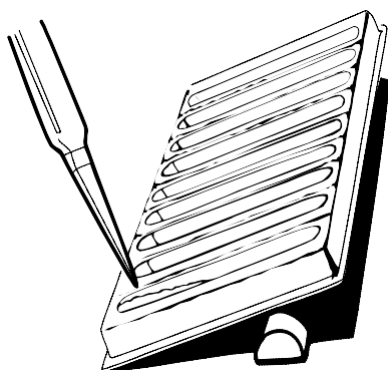


Рисунок 1. Аспирация из лотка жидкости

## Инструкции по инкубации

- Скорость, создаваемая качалкой или встряхивателем, имеет решающее значение для достижения окраски линий и максимальной чувствительности.
- Все этапы инкубации (инкубация образца, конъюгата, субстрата и серной кислоты) как также этапы промывки следует выполнять на шейкере или качалке.
- Во время инкубации и промывки поверхность полоски должна быть полностью погруженной обратной стороной вниз.
- Шейкер или качалка должны позволять движение полосок назад и вперед в желоба, и движение жидкости по полоскам без разлива жидкости по краям желоба.

## Рекомендации

Для орбитального шейкера:

- Диаметр кругового движения должен быть не менее 13 мм.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 13 мм - 160 об / мин.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 24 мм - 90 об / мин.

Для рокера:

- Амплитуда должна быть не менее 11 °
- Рекомендуемая скорость 34 об / мин при угле качания около 9 °.

## Результаты

Расположение и идентификация антигенов и контролей, нанесенных на полоску, показаны на рисунке 2.

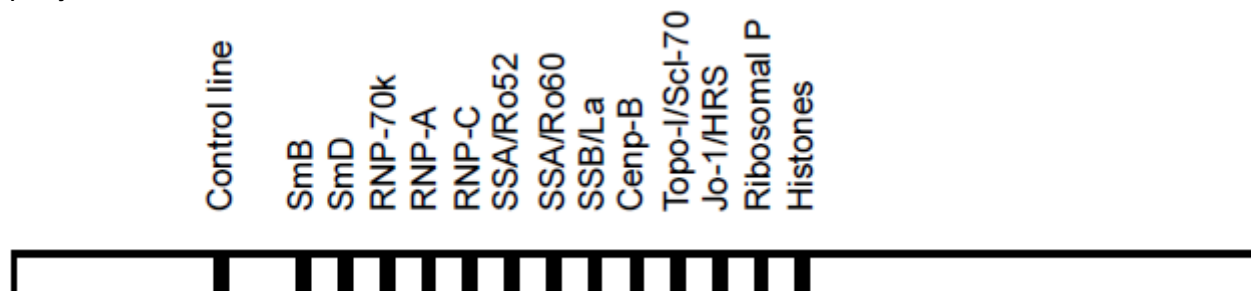


Рисунок 2. INNO-LIA ANA Обновленная полоска

## Валидация

- Первая строка на полосе (со стороны нумерованной) - это контрольная линия добавления пробы.
- Интенсивность этой линии должна быть сильной.
- Полосы с очень высоким цветом фона не интерпретируются.
- Контроль отсечки должен быть включен в каждый прогон. Все полосы на отрезанной полосе должны быть видны.

## Интерпретация результатов

Для облегчения интерпретации прилагается карта для чтения. Совмещение разработанной полоски с контрольной линией на считывающей карте упрощает идентификацию линии. Сравните интенсивность всех полос на полосе пациента с интенсивностью соответствующих полос на обрезанной полосе. Это облегчает прикрепление отрезной полосы к считывающей карточке.

Полоса пациента может быть интерпретирована только в том случае, если контрольная линия имеет такую же интенсивность, что и контрольная линия отрезной полосы.

*Отрицательные результаты*

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Отрицательный</b> | <p>Образец отрицательный для всех маркеров, когда интенсивность всех полос равна более низкой интенсивности, чем у эталонных полос на отрезной полосе, но не сомнительная.</p> <p>На рисунке 3 показан пример отрицательного результата.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Сомнительный</b>  | <p>Образец сомнителен для конкретного маркера, если интенсивность соответствующей полосы равна эталонной полосе на отрезной полосе или ниже, но все еще хорошо видна.</p> <p>На рисунке 3 показан пример сомнительного результата.</p> <p>Интерпретация:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Образец <b>сомнителен для SSB / La, Cern-B, Scl-70, Jo-1, рибосомального Р и / или гистоны</b>, если интенсивность соответствующей полосы сомнительна.</li> <li>- Образец <b>сомнителен для Sm</b>, если полоса SmD сомнительна *.</li> <li>- Образец является <b>сомнительным для RNP</b>, если по крайней мере 2 из 3 диапазонов RNP сомнительны, или одна из полос RNP положительна, и одна или обе полосы другие группы сомнительны.</li> <li>- Образец является <b>сомнительным для SSA</b>, если один из диапазонов SSA является сомнительным и другая полоса отрицательная, или если обе полосы SSA сомнительны.</li> </ul> <p>Сомнительный образец считается погранично отрицательным, рекомендуется последующее наблюдение.</p> |

*Положительные результаты*

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Положительный</b> | <p>Образец положительный для определенного маркера, если интенсивность соответствующей полосы выше, чем интенсивность другой полосы на отрезанной полосе.</p> <p>На рисунке 3 показан пример положительного результата.</p> <p>Интерпретация:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Образец положительный на SSB / La, Cern-B, Scl-70, Jo-1, рибосомный Р и / или гистоны</b>, если интенсивность соответствующей полосы положительна.</li> <li>- Образец <b>положительный на Sm</b>, если полоса SmD положительна *.</li> <li>- Образец <b>положительный на RNP</b>, если как минимум 2 из 3 полос положительны.</li> <li>- Образец <b>положительный на SSA</b>, если хотя бы одна из полос SSA положительная.</li> </ul> |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

\* Ван Венройдж WJ и др., Консенсусные семинары по обнаружению аутоантитела к внутриклеточным антигенам при ревматических заболеваниях. J Immunol методы 1991; 140: 181-189. «Поскольку антитела против белков В ' / В часто обнаруживаются в сыворотках, отличных от Sm (в основном, в результате перекрестной реакции), присутствие антител против D является показателем для анти-Sm ».

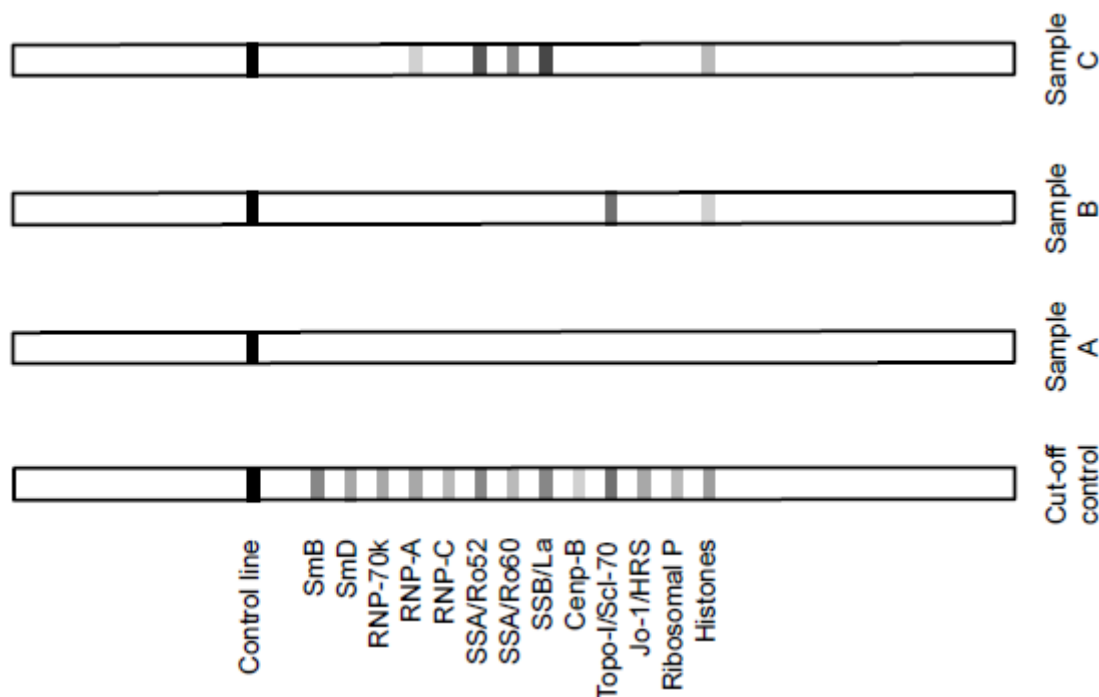


Рисунок 3. Образец А отрицателен для всех маркеров; образец В сомнителен для Топо-І; образец С положительный для SSA (оба диапазона положительные) и SSB / La, но отрицательно для всех остальных диапазонов

### Интерпретация с LiRAS для LIA ANA

Прикрепите полоски к шаблону для чтения и поместите шаблон на сканер. В

LiRAS для LIA ANA сравнивается интенсивность всех полос на полосе пациента с интенсивностью соответствующих полос на обрезанной полосе.

Интерпретация выполняется, как описано выше. О сомнительной реактивности сообщают, когда интенсивность одной или нескольких полос имеют интенсивность между отсечкой и отсечкой минус 33%.

### Ограничения процедуры

Не смотря на то, что наличие высоких титров антинуклеарных антител свидетельствует о системном заболевании соединительной ткани, данные следует рассматривать в свете клинических анамнезов, представленных пациентом.

У некоторых людей может быть повышенный уровень антинуклеарных антител при незначительном или отсутствии клинического заболевания.

Напротив, некоторые пациенты с признаками клинического заболевания могут иметь неопределяемые уровни этих антител.

### Выполнение теста

#### Чувствительность

Чувствительность INNO-LIA ANA Update оценивалась в 11 независимых исследовательских центрах: Австралия, Бельгия (два учебных центра), Дания, Италия, Нидерланды (два учебных центра), Словакии, Великобритании (два учебных центра) и США.

В таблице 1 показаны соответствующие общие средние значения чувствительности INNO-LIA ANA Update, а также диапазон (по центру, если задействовано более одного центра).

Чувствительность рассчитывалась с учетом клинического диагноза. Ожидаемый Профиль аутоантител для каждого клинического диагноза выделен жирным шрифтом.

Таблица 1. Чувствительность обнаружения аутоантител с помощью INNO-LIA ANA Update при различных аутоиммунных патологиях

| <b>INNO-LIA ANA Update</b> | <b>SLE (n=498)</b><br>4 центра        | <b>MCTD (n=39)</b><br>1 центра | <b>SjS (n=93)</b><br>2 центра         | <b>SSc (n=72)</b><br>2 центра         | <b>PM/DM (n=98)*</b><br>2 центра      | <b>CHB (n=94)</b><br>2 центра         | <b>RA (n=40)</b><br>1 центр           |
|----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
|                            | Чувствительность (диапазон центр) (%) | Чувствительность (%)           | Чувствительность (диапазон центр) (%) | Чувствительность (диапазон центр) (%) | Чувствительность (диапазон центр) (%) | Чувствительность (диапазон центр) (%) | Чувствительность (диапазон центр) (%) |
| Sm                         | 13(5-26)                              | 13                             | 3 (0-6)                               | 0                                     | 1(0-4)                                | 3 (0-4)                               | 0                                     |
| SmB                        | 26 (18-39)                            | 44                             | 0                                     | 3 (0-5)                               | 2 (0-4)                               | 5 (0-6)                               | 3                                     |
| SmD                        | 13 (5-26)                             | 13                             | 3 (0-6)                               | 0                                     | 1 (0-4)                               | 3 (0-4)                               | 0                                     |
| RNP                        | 19 (15-35)                            | 87                             | 0                                     | 1 (0-3)                               | 3 (0-4)                               | 4 (0-4)                               | 1                                     |
| RNP-70k                    | 13 (11-21)                            | 72                             | 1 (0-2)                               | 1 (0-3)                               | 8 (0-14)                              | 5 (0-6)                               | 5                                     |
| RNP-A                      | 21 (17-39)                            | 87                             | 1 (0-2)                               | 1 (0-3)                               | 4 (0-6)                               | 5 (0-6)                               | 3                                     |
| RNP-C                      | 22 (13-36)                            | 74                             | 1 (0-2)                               | 0                                     | 2 (0-4)                               | 4 (0-5)                               | 5                                     |
| SSA/Ro52                   | 20 (13-24)                            | 5                              | 75 (58-89)                            | 3 (0-5)                               | 15 (10-32)                            | 77 (53-81)                            | 3                                     |
| SSA/Ro60                   | 29 (20-33)                            | 3                              | 73 (55-87)                            | 1 (0-3)                               | 4 (0-11)                              | 84 (80-85)                            | 3                                     |
| SSB/La                     | 15 (5-17)                             | 3                              | 66 (50-76)                            | 0                                     | 6 (0-16)                              | 70 (53-73)                            | 3                                     |
| Cenp-B                     | 2 (1-5)                               | 0                              | 7 (2-13)                              | 29 (0-60)                             | 3 (0-7)                               | 2 (1-7)                               | 0                                     |
| Topo-I/Scl-70              | 2 (0-3)                               | 0                              | 1 (0-2)                               | 18 (10-32)                            | 0                                     | 1 (0-1)                               | 0                                     |
| Jo-1/HRS                   | 1 (0-1)                               | 0                              | 1 (0-3)                               | 0                                     | 18 (5-29)                             | 0                                     | 0                                     |
| Ribosomal P                | 12 (3-27)                             | 0                              | 1 (0-1)                               | 0                                     | 0                                     | 2 (1-7)                               | 0                                     |
| Histones                   | 29 (30-39)                            | 5                              | 4 (3-6)                               | 3 (0-5)                               | 2 (0-4)                               | 3 (0-4)                               | 8                                     |

\* результаты 1 из 2 центров были использованы для оптимизации антитела Jo-1 INNO-LIA ANA

Update. (CLE = системная красная волчанка, MCTD = смешанное заболевание соединительной ткани, SjS = болезнь Шегрена, SSc = склеродермия, PM / DM = поли- или дерматомиозит, CHB = врожденная блокада сердца, RA = ревматоидный артрит).

### Специфичность

Специфика INNO-LIA ANA Update, оцененная в одном исследовательском центре в г.

Дании, была рассчитана на основе результатов выборки от 20 пациентов с

Гранулематоз Вегенера (WG), 20 пациентов с воспалительным заболеванием кишечника (IBD),

20 пациентов с антифосфолипидным синдромом (APS), 12 пациентов с псориазом (PsA), 100 пациентов с инфекцией (в том числе 10 с вирусом гепатита В (HBV),

10 вирус гепатита С (HCV), 10 парвовирус, 10 стрептококк, 10 микоплазма,

10 простого герпеса, 10 сальмонелл, 10 краснухи, 10 цитомегаловируса (ЦМВ), 10 вирусом Эпштейна-Барра (EBV) и 100 пациентов от практически здоровых доноров крови (таблица 2).

Таблица 2. Распространенность аутоантител, обнаруженных с помощью INNO-LIA ANA Update, в различных контрольных группах

| INNO-LIA ANA Update | Sm              | SmB  | SmD  | RNP | RNP-70k | RNP-A | RNP-C | SSA/Ro52 | SSA/Ro60 | SSB/La | Cenp-B | Topo-I/Scl-70 | Jo-1/HRS | Ribosomal P | Histones |
|---------------------|-----------------|------|------|-----|---------|-------|-------|----------|----------|--------|--------|---------------|----------|-------------|----------|
| Total (n=272)       | Specificity (%) | 99.3 | 99.3 | 100 | 99.6    | 99.6  | 98.9  | 98.2     | 98.9     | 98.2   | 99.6   | 99.6          | 100      | 100         | 97.4     |

### Товарные знаки

- INNO-LIA является товарным знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.

- LiRAS является товарным знаком Fujirebio Europe N.V. (ранее известная как Innogenetics N.V.), зарегистрированный в ЕС.



(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FR72234**  
80332 INNO-LiPA HLA-A Update  
28754 v5  
2020-01-23  
стр. 1/17  
Английский

## INNO-LiPA HLA-A Update



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                               | 3  |
| Предусмотренное применение .....                                            | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                           | 4  |
| Реагенты .....                                                              | 5  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 5  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                             | 7  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                       | 7  |
| Образцы.....                                                                | 9  |
| Процедура работы.....                                                       | 9  |
| Работа с полосками .....                                                    | 9  |
| Указания по ручной инкубации .....                                          | 9  |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках .....                          | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                      | 10 |
| Процедура анализа ручным методом .....                                      | 11 |
| Образцы .....                                                               | 11 |
| Денатурация и гибридизация.....                                             | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                       | 12 |
| Проявление цвета .....                                                      | 12 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> .....                   | 13 |
| Результаты.....                                                             | 13 |
| Считывание.....                                                             | 13 |
| Подтверждение .....                                                         | 14 |
| Интерпретация результатов .....                                             | 14 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....               | 14 |
| Ограничения процедуры:.....                                                 | 15 |
| Проведение анализа .....                                                    | 15 |
| Точность .....                                                              | 15 |
| Разрешение (таблица типирования, версия v1.0/2001-03-31).....               | 16 |
| Реакционная способность зонда .....                                         | 16 |
| Чувствительность .....                                                      | 16 |
| Прецизионность.....                                                         | 17 |
| Торговые знаки .....                                                        | 17 |

**Используемые обозначения**

Производитель



Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)



Код партии



Номер по каталогу



Срок годности



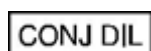
Следуйте рекомендациям по применению



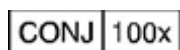
Диапазон температур



Содержание, достаточное для &lt;n&gt; испытаний



Конъюгат разбавитель



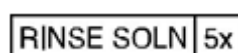
Конъюгат 100x



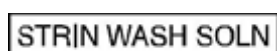
Раствор для денатурирования



Раствор для гибридизации



Раствор для промывания 5x



Раствор для жёсткой промывки



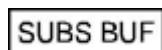
Полоски 1



Полоски 2



Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x



Субстратный буфер



Опасность



Предупреждение



Анализ олигонуклеотидными зондами

**Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-A Update – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения in vitro (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) на уровне аллельной группы.

### Принцип проведения испытания

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации, кратко изложенном на Рисунке 1. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета.

Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-A Update для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-A Multiplex). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR). Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 2 типизирующих полос, на которых находятся 43 последовательно-специфических зонда и 2 контрольных линии (Рисунок 2).

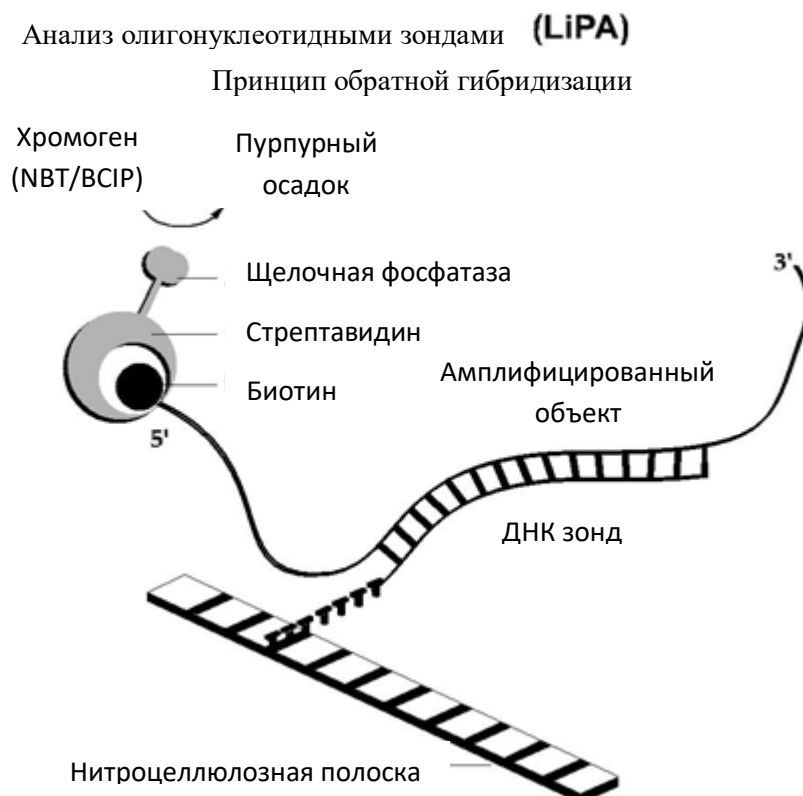


Рисунок 1: Принцип проведения теста типирования INNO-LiPA HLA

### INNO-LiPA HLA-A Update: шаги

Шаг 1 Мультиплексная амплификация экзонов от 1 до 4 локуса HLA-A

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 44 зондами, закрепленными на двух полосах INNO-LiPA HLA-A Update (56°C)

**Шаг 3 Проявление цвета****Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда**

INNO-LiPA HLA-A Update разработан с целью найти лучшее решение, используя метод обратной гибридизации на уровне аллельной группы (это отображается в двух первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA), напр. HLA-A\*26).

В дополнение к интерпретации группы аллеля, программное обеспечение предложит все возможные комбинации аллелей, однако эту информацию необходимо воспринимать как дополнительную, а не решающую.

**Реагенты****Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения**

- Все не вскрытые и хранящиеся при температуре 2 – 8°C реагенты для анализа, включая покрытые индикаторные полоски, остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты.
- Все реагенты и пластмассовые пробирки с индикаторными полосками необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Набор должен храниться отдельно от любого источника, заражённого ДНК, в особенности амплифицированных ДНК продуктов.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

Каждая упаковка содержит:

| <b><u>Компонент</u></b> | <b><u>Количество</u></b> | <b><u>Номер</u></b> | <b><u>Описание</u></b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Конъюгат 100x           | 1 x 1.5 мл               | 60687               | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл <b>сверх</b> . (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Конъюгат разбавитель    | 1 x 150 мл               | 55671               | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Раствор для денатурации | 1 x 1 мл                 | 56718               | Щелочной раствор с содержанием этилендиаминтетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                                                                         |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                         |            |       | немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Раствор для гибридизации                                                | 2 x 80 мл  | 56719 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Раствор для промывания 5x                                               | 2 x 80 мл  | 56721 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% MIT/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизированной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.                                              |
| Раствор для жёсткой промывки                                            | 2 x 200 мл | 56720 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Полоски 1                                                               | 1 x 20     | 56714 | Содержит 20 полосок 1 для INNO-LiPA HLA-A Update с ярко-голубой полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Полоски 2                                                               | 1 x 20     | 56715 | Содержит 20 полосок 2 для INNO-LiPA HLA-A Update с бирюзовой полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 1.5 мл | 55723 | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии |

|                       |            |       |                                                                                                                            |
|-----------------------|------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Субстратный буфер     | 1 x 235 мл | 55732 | хранения в тёмном месте.<br>Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта. |
| Инкубационный планшет | 5          | -     | Каждый имеет по 8 лунок.                                                                                                   |
| Считывающая карта     | 1          |       | Для идентификации положительных зондов.                                                                                    |
| Листок отчётности     | 2          |       | Для хранения использованных полос.                                                                                         |

### Не предоставляемые необходимые материалы:

- INNO-LiPA HLA-A Multiplex.
- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56 °C±0,5 °C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

#### Рекомендации по использованию орбитальных шейкеров:

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

#### Рекомендации по использованию возвратно-поступательных шейкеров:

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

#### Рекомендации по использованию колебательных шейкеров с платформой:

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.
- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа (±1 минута).

### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий.

Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P333+P313 P363 P302+P352



**Опасность:** N,N-Диметилформаид, 5,5'-дифенил-3,3'бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолиум дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x H312 H319 H332 H360D

P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

#### *Краткая характеристика опасностей*

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

#### *Меры*

##### *предосторожности*

|                |                                                                                                                                                                         |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                                                                                                                        |
| P260           | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                                                                                                                        |
| P261           | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                                                                                                              |
| P280           | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.                                                                                            |
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                                                                                |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой под душем.                                                        |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание. |
| P308+P313      | Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                                        |
| P310           | Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.                                                                                                            |
| P333+P313      | При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                          |
| P363           | Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.                                                                                                          |

- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно.

Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.

- Простерилизовать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
- Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
- Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия.

Перед уничтожением дать постоять ночь.



**ВНИМАНИЕ:** перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоты.

- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

### **Образцы**

Так как тест INNO-LiPA HLA-A Update использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, набор для амплификации INNO-LiPA HLA-A Multiplex предоставляется в качестве дополнительного инструмента.

### **Процедура работы**

#### ***Работа с полосками***

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте **карандаш** для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До расшифровки, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.
- Отработанные сухие полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25 °C.
- Не используйте повторно лунки.

#### ***Указания по ручной инкубации***

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-негативных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани с качающейся платформой во время инкубации, чтобы избежать ложно-положительные сигналы.
- Не используйте шейкер с горячим воздухом для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки, лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для определения цвета должны проходить при температуре между 20 и 25°C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.

- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее следует не допускать проливание жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперед таким образом, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунок.
- Не накрывайте планшеты. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

#### **Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательна присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетечь в один конец лунки.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения теста.

Заметка:

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Высасывайте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

#### **Замечания и меры предосторожности**

- Только для использования in vitro (в лабораторных условиях).
- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждой аликвоты образца.

- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

### **Процедура анализа ручным методом**

Заметка:

- В течение разных инкубационных этапов, индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации, с помощью калибровочного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

### **Образцы**

1. Амплифицированный HLA-A продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-A Multiplex.

Заметка:

- Убедитесь, что добавили именно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к ошибочным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль) используйте 10 мкл).

### **Денатурация и гибридизация**

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество Полосок 1 и Полосок 2 INNO-LiPA HLA-A Update из колбы (по одной полоске 1 и 2 для тестового образца). Внесите обе полоски в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше ярко-голубой/бирюзовой линией отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.

Примечание:

- Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы; ознакомьтесь с инструкцией по использованию INNO-LiPA HLA-A Multiplex) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять 5 минут при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ .
  6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждую лунку.

Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте инфицирования соседних лунок во время работы с пипеткой.

7. Немедленно положите полоску в лунку. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

Примечание:

- Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет

8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.

Примечание:

- Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между  $1/3$  и  $1/2$  высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации, достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательно присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 3 минут.
3. После инкубации достаньте планшет из водяной бани и удалите жидкость из лунки.
4. Повторите ещё раз этап трёхминутной инкубации и этап аспирации.
5. В конце, добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 4 минут.

Примечание:

- В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

### ***Проявление цвета***

Последовательная инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации, жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Промывайте каждую полоску в течение 1 минуты, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Инструкцию по замене жидкости в лунках).
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение 30 минут, взбалтывая планшет в шейкере.

Примечание:

- Разведите субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.
3. Промойте каждую полоску дважды по минуте с использованием рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
  4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

ВНИМАНИЕ:

- Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.

5. Остановите проявление цвета, промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.
6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до анализа результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### Процедура автоматического анализа: *Auto-LiPA*

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой.

Стандартный 48 протокол *Auto-LiPA* описывает анализ 24 образцов с использованием одной полоски на одну лунку. Это количество, однако, может быть увеличено до максимального – 48. Для выполнения этого две полоски из одного локуса тестируются в одной лунке, сохраняя все остальные параметры протокола неизменными. Обратите внимание на то, что изредка может наблюдаться более слабая реакционная способность зондов. Следовательно, покупателям, желающим увеличить количество образцов, рекомендуется проверить процедуру «2 полоски в одной лунке» в своей лаборатории.

Для получения более подробной информации и особенных протоколов касательно *Auto-LiPA*, пожалуйста, обратитесь в компанию «Fujirebio Europe N.V.» или к Вашему местному распространителю.

### Результаты

#### Считывание

На рисунке 2 показано расположение разных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-A Update. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.

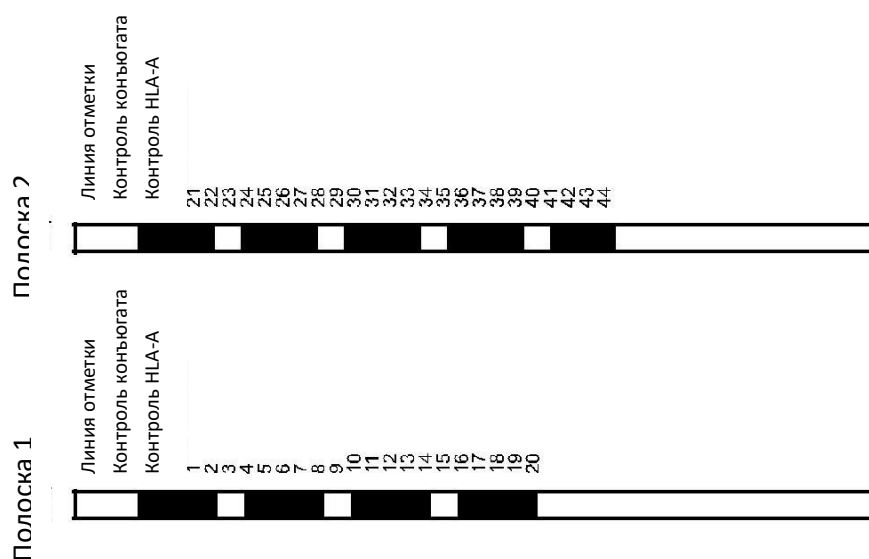


Рисунок 2: расположение линии отметки (ярко-голубой линии на Полоске 1 и бирюзовой линии на Полоске 2), контрольная линия конъюгата, ), контрольная линия HLA-A Update, 44 линии зондов на полосках INNO-LiPA HLA-A Update.

**Подтверждение**

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самые верхние линии на INNO-LiPA HLA-A Update полосках (Рисунок 2) являются линиями отметки (ярко-голубые и бирюзовые линии). Эти линии позволяют правильно использовать полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной (если нет: нельзя производить интерпретацию!) и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.
- Следующая линия – линия внутреннего контроля гибридизации HLA-A Update (контроль HLA-A Update на считывающей карте), которая показывает, достаточное ли количество амплифицированного материала было добавлено для гибридизации.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

**Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первых двух линий).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-A Update и определите тип HLA-A, используя таблицу типирования INNO-LiPA HLA-A Update или интерпретационное программное обеспечение LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение LiRAS). Программное обеспечение зачастую предлагает больше результатов, чем предполагается при использовании: даётся интерпретация на уровне аллельных групп и все возможные комбинации аллелей. Так как набор не предназначался для типирования этих аллелей на аллельном уровне, эту информацию следует считать дополнительной, но не решающей.

**Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA-A создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Чтобы получить последнюю обновлённую версию, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

**Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- INNO-LiPA HLA-A Update полоски были созданы, чтобы провести разрешение на уровне аллельной группы (A\*01 до A\*80). Тем не менее, сочетание некоторых аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и, следовательно, к неопределённому результату в виде двух или более возможных сочетаний аллельных групп.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмом за пределами области зондов.
- Контрольные линии HLA-A Update являются характерными не только для HLA-A, но и практически для всех HLA-B и HLA-C аллелей. Следовательно, линии контроля HLA-A могут вступать в реакции с продуктами амплификации HLA-B и HLA-C.

**Проведение анализа**

Проведение INNO-LiPA HLA-A Update оценивалось в 4 европейских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования. Всего было проанализировано 346 образцов. ДНК была выделена из свежего или замороженного образца крови с добавлением этилендиаминтетрауксусной кислоты (против коагуляции) или с цитратным антикоагулянтом. Методами выделения ДНК являлись: высаливание, набор QIAamp 96 DNA blood kit (Qiagen), набор для выделения геномной ДНК (Promega) и набор реагентов Puregene (Gentra Systems). Свежая или замороженная ДНК амплифицировалась с помощью термоблоков PE 9600 или PE9700 системы GeneAmp PCR. До нанесения на полоски ампликоны хранились при температуре 2-8°C или -25/-15°C.

Никаких ошибок амплификации не обнаружилось, хотя повторный анализ потребовался для одного образца.

Образцы обрабатывались с помощью приборов *Auto-LiPA* и интерпретировались с помощью клинической испытательной версии интерпретационного программного обеспечения LiRAS.

**Точность**

Результат типирования HLA-A был получен для 345 из 346 образцов. Проведение повторного анализа было необходимо для 18 образцов из одного центра. Результатом одного образца стала «невозможность произвести типирование», но, согласно исследователю, это могло произойти вследствие заражения ДНК. Точность на уровне аллельной группы подсчитывалась как процентное соотношение выявленных совпадений с альтернативными анализами ДНК (Biotest ELPHA HLA-AB LowRes Typing kit, Dynal SSP, LiPA HLA-A, секвенирование, Micro SSP, OLERUP SSP, Biotest HLA-A SSP). Результаты INNO-LiPA HLA-A Update рассматривались как схожие с результатом эталонного анализа, если оба результата были идентичны, если результаты INNO-LiPA HLA-A Update были более точными по сравнению с результатом эталонного анализа, или

если результаты INNO-LiPA HLA-A Update показали более низкую степень разрешения, но верный результат в сравнении с эталонным методом.

Изначально точность была 99.1% (342/345). Анализ несоответствий привёл к точности в 99.7% (344/345). Были приняты усилия по предотвращению в будущем ошибок типирования, возникших с одним образцом во время исследования.

#### ***Разрешение (таблица типирования, версия v1.0/2001-03-31)***

INNO-LiPA HLA-A Update разработан для разрешения аллелей HLA-A на уровне аллельной группы, т.е. на уровне серологических эквивалентов. «Аллельная группа» – обозначение двух первых символов после звёздочки в стандартной классификации HLA (напр. HLA A\*32). Более того, набор разработан с целью обнаружения следующих молчащих аллелей: A\*0232N (экзон 3), A\*0303N (экзон 3), A\*2409 N (экзон 4), A\*2611 N (экзон 3) и A\*6811 N (экзон 1). Аллель A\*2402102L, обладающая низкой степенью выразительности, также может быть обнаружена (интрон 2).

Теоретически, разрешение на уровне аллельной группы (т.е. 2 символов) составляет 99.5%. Разрешение на уровне аллельной группы, наблюдавшееся в процессе данного исследования, после анализа несоответствий составило 99.4% (343/345). Изначально было замечено одно несоответствие (A\*02 x A\*66 или A\*02 x A\*26). Второе несоответствие выявилось в результате применения таблицы типирования (A\*3201 x A\*3201 или A\*3201 x A\*7403). Пять несоответствий (14 образцов), выявленных с помощью эталонного метода, были сведены к одному чётко определённом результату типирования с помощью использования метода INNO-LiPA HLA-AUUpdate.

#### ***Реакционная способность зонда***

Десять зондов реагировали ложно-положительно, и шесть зондов реагировали слабо или ложно-отрицательно в одном или более случаях в ходе данного клинического испытания. Данная информация, если ещё не была представлена, была реализована в программном обеспечении и/или руководствах с целью облегчить последующее типирование. С использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS были выявлены все, кроме одной, ложные реакционные способности и было достигнуто конкордантное типирование на уровне аллельной группы. Применение таблицы типирования поможет справиться с риском возникновения ошибки типирования, вызванной одной ложноотрицательной реакцией.

Обратитесь к руководству для получения дополнительной информации о реакционной способности зонда.

Доступен полный список характеристик зондов и праймера. Все зонды предназначены исключительно для гибридизации в комплементарной последовательности на уровне одного несовпадения, если иное не указано в списке.

#### ***Чувствительность***

Внутренняя оценка серии растворов 3-х образцов ДНК с концентрацией, варьирующейся от 0.01мкг/мкл до 2мкг/мкл, показала, что все образцы были видны на агарозном геле и были правильно типированы. Внешняя оценка включала 346 образцов ДНК с концентрацией между 20 мкг/мкл и 1500 мкг/мкл и со степенью гомогенности  $(A_{260nm}/A_{280nm}) \geq 1.5$ . ДНК до амплификации растворялась до степени концентрации между 20µg/µl и 250µg/µl. Нарушений амплификации не встречалось, хотя для одного образца потребовалось повторное исследование



**Прецизионность**

Внутренние данные:

В четырёх параллельных анализах двумя разными людьми методом ручного анализа или одним человеком на двух разных приборах *Auto-LiPA* было испытано три образца. Два образца испытывались на трёх разных участках в двух разных сериях опытов. Анализ результатов был одинаковым для всех образцов. Реакционная способность зондов была сопоставима во всех случаях.

Внешнее подтверждение:

- вариативность между партиями оценивалась путём анализа панели (5 образцов с известной реакционной способностью и интерпретацией) с двумя разными пробами продукции. Для каждого образца был получен один и тот же результат типирования независимо от использовавшейся пробы.
- межлабораторная вариативность оценивалась путём анализа одной и той же панели четырьмя центрами. Все центры получили одинаковые результаты типирования для пяти образцов.

**Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.
- GeneAmp и MicroAmp является торговым знаком Аплиед Биосистемс, ЛЛС.
- QIAamp® и Purigene® являются зарегистрированными торговыми знаками компании «QIAGEN Group».

## INNO-LiPA HLA-A Multiplex



### Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

### Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел.: +32 9 329 13 29  
Факс.: +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел.: +49 511 857 39 31  
факс.: +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел.: +33 1 69 07 48 34  
факс.: +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел.: +39 06 965 28 700  
Факс.: +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел.: +34 93 270 53 00  
Факс.: +34 93 270 53 02  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI91221](http://www.e-labeling.eu/FRI91221)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                             |   |
|-----------------------------------------------------------------------------|---|
| Используемые символы.....                                                   | 2 |
| Предполагаемое использование .....                                          | 2 |
| Принцип проведения теста .....                                              | 3 |
| Реагенты .....                                                              | 3 |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 3 |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                   | 3 |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                | 4 |
| Сбор, подготовка и хранение образцов .....                                  | 4 |
| Выделение ДНК .....                                                         | 4 |
| Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) .....                | 4 |
| Цикличность ПЦР.....                                                        | 4 |
| Примечания и меры предосторожности.....                                     | 4 |
| Процедура проведения теста .....                                            | 5 |
| Результаты.....                                                             | 6 |
| Визуализация.....                                                           | 6 |
| Проверка достоверности.....                                                 | 6 |
| Ограничения процедуры .....                                                 | 7 |
| Выполнение теста.....                                                       | 7 |
| Чувствительность .....                                                      | 7 |
| Точность (внутренние данные) .....                                          | 7 |
| Товарные знаки.....                                                         | 8 |

## Используемые символы



Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



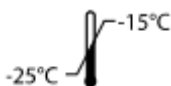
Номер по каталогу



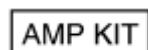
Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Набор для амплификации



Буферный раствор для амплификации



LiPA Taq



Раствор праймера

## Предполагаемое использование

Набор «INNO-LiPA HLA-A Multiplex», для использования в лабораторных условиях, предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты с первого по четвёртый экзон лейкоцитарного антигена человека (HLA) locus A. Реакция осуществляется посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мультиплексном формате.

## Принцип проведения теста

Образец ДНК, который должен быть амплифицирован посредством ПЦР, вводится в смесь реагентов, состоящую из буферного раствора с избытком дезоксинуклеозид 5'-трифосфатов (dNTPs), биотинилированных праймеров и термостабильной ДНК-полимеразы. Праймеры амплифицируют целевую последовательность ДНК, указанную в положении «Предполагаемое использование».

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, что подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. После охлаждения до заданной температуры, эти праймеры будут связываться с комплементарными участками последовательностей, фланкирующими целевую последовательность (отжиг). При другой заданной температуре термостабильная ДНК-полимераза будет использовать избыточные dNTPs, чтобы достроить отождествленные праймеры вдоль целевой матрицы (достройка). Таким образом, две точные биотинилированные копии целевой последовательности воспроизводятся после одного цикла. После многочисленных циклов образуется огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить отдельно от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных ДНК-продуктов.
- Обращаясь с реагентами, используемыми для процессов амплификации, следует в помещении, не содержащем амплифицированную ДНК.
- Следует использовать стерилизованные в автоклаве пробирки и наконечники дозатора (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- При поддержании температуры в диапазоне от -25 до -15°C и хранении в оригинальных флаконах, реагенты обладают стабильностью до даты истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить аликвотами реагенты (за исключением LiPA-Taq) после первого применения и затем хранить их при температуре от -25 до -15°C.
- Не используйте реагенты после истечения срока годности набора.
- Изменения внешнего вида реагентов, входящих в набор, может указывать на нестабильность или ухудшение их свойств.

| <b>Компонент</b>                  | <b>Количество</b> | <b>Ссылочный номер</b> | <b>Хранение</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------|-------------------|------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл        | 56722                  | от -25 до -15°C | Содержит все дезоксинуклеозид 5'-трифосфаты (dNTPs) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания перед использованием.                                                                             |
| Раствор праймера                  | 1 x 0,3 мл        | 56724                  | от -25 до -15°C | праймеры, MgCl <sub>2</sub> , Трис-буфер и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания для того, чтобы полностью растворить MgCl <sub>2</sub> до использования и доведите до температуры 20 - 25°C. |
| LiPA-Taq                          | 1 x 0,035 мл      | 700093                 | от -25 до -15°C | Содержит ДНК-полимеразу Taq (2 ед./мкл) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Храните при температуре от -25 до -15°C непосредственно перед использованием.                                                              |

### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозатора (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер ДНК и оборудование.
- Дозаторы, регулируемые для подачи 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.

- Автоклавированная дистиллированная вода.
- Минеральное масло (если требуется).

#### **Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.innogenetics.com](http://www.innogenetics.com).
- С образцом всегда следует обращаться как с потенциально опасным веществом.
- Необходимо использование средств защиты: перчатки и защитные очки при обращении с опасными или инфекционными агентами.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

#### **Сбор, подготовка и хранение образцов**

##### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Реагенты не поставляются.

#### **Выделение ДНК**

Можно применять широко используемые методы извлечения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Хранить образцы ДНК при температуре от -25 до -15°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию от 0,02 мкг/мкл до 1,5 мкг/мкл.**

**Степень чистоты ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1,5$ .**

#### **Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)**

Каждый компонент должен добавляться и поставляться в надлежащем количестве. Слишком большой или слишком маленький объем образца или реагентов может привести к неспецифической амплификации или даже к полному отсутствию амплификации.

#### **Цикличность ПЦР**

Следует выбирать правильный температурный профиль для «INNO-LiPA HLA-A Multiplex».

#### **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты следует изолировать от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных ДНК-продуктов. Кроме того, следует избегать микробного загрязнения реагентов.
- Избегать любого возвращения из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.
- Все наконечники дозатора и пробирки, используемые для процесса амплификации, должны быть простерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозатора с ватными пробками. Используйте новый стерильный наконечник дозатора для каждого поделённого на аликвоты образца.

- Не смешивать реагенты из разных наборов, если только компоненты не имеют идентичных номеров партий.
- После оттаивания, перемешать на вортексе Раствор для амплификации и Раствор праймера и осадить путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA Taq.

### Процедура проведения теста

#### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Данный протокол по амплификации экзона 1, экзона 2, экзона 3 и экзона 4 гена HLA-A был разработан с целью выполнения оптимальной амплификации, используя пробирки для ПЦР GeneAmp® (объёмом 0,5 мл) и термоциклеры PE-480, или пробирки для ПЦР MicroAmp® (объёмом 0,2 мл) и термоциклеры ПЦР-системы 9700 GeneAmp®, а также LiPA-Taq.
- Настоящий протокол можно использовать для большинства термоциклеров промышленного типа, но он может потребовать некоторых изменений, указанных изготовителем термоциклера.
- Перед использованием определить, согласуется ли протокол с термоциклером, используемым в Вашей лаборатории. **Следите за тем, чтобы термоциклер был откалиброван перед использованием.**
- Примите необходимые меры предосторожности для того, чтобы избежать неспецифической амплификации и образования праймер-димеров, что может ухудшить результаты:

- Выполнить успешно и без задержек этапы по отмериванию дозатором.
- Предварительно нагреть (до  $95^{\circ}\text{C} \pm 0,75^{\circ}\text{C}$ ) нагревательный блок термоциклера перед тем, как вставить образцы, и незамедлительно приступить к процессу выполнения цикла.

1. Разбавить каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 1,5 мкг/мкл в буферном растворе трис-EDTA.
2. Определить количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:

$N = \text{количество образцов ДНК} + 1$  (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1.

Используя наконечники дозатора, закрытых ватной пробкой, подготовить исходную смесь (мастер-микс) в стерилизованной в автоклаве пробирке объёмом 1,5 мл:

(N x 23,75 мкл) автоклавированной дистиллированной воды  
+ (N x 10 мкл) буферного раствора для амплификации  
+ (N x 10 мкл) раствора праймера HLA-A Multiplex  
+ (N x 1,25 мкл) LiPA-Taq (N x 2,5 ед.)

Общий объём этой смеси для амплификации теперь будет составлять (N x 45 мкл). Быстро перемешать на вортексе и распределить аликвотами 45 мкл этой исходной смеси в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

3. Добавить 2 капли (~ 40 мкл) минерального масла в каждую пробирку в случае необходимости (например при использовании PE-480). Отмерить дозатором 5 мкл (0,1 - 7,5 мкг) препарата геномной ДНК (используя минеральное масло, при необходимости).  
Добавить 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

#### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не перемешивать на вортексе и не смешивать.
- Убедитесь, что смесь для амплификации находится в нижней части пробирки!

4. Поместить образцы в предварительно нагретый и откалиброванный термоблок (см. инструкции, предписанные изготовителем термоциклера). Запустить программу амплификации, предназначенную для амплификации INNO-LiPA HLA-A Multiplex.

## Профиль амплификации HLA-A Multiplex

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса I INNO-LiPA HLA.

5. По завершении процесса амплификации сразу использовать образцы с индикаторными полосами «INNO-LiPA HLA-A Update» или хранить при температуре от -25 до -15 °C.

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не хранить амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты****Визуализация**

- Присутствие ампликонов можно проверить на 2% агарозном геле. Наполнить каждое гнездо по 10 мкл амплифицированного продукта. Амплификация набора «INNO-LiPA HLA-A Multiplex» производит три ампликона длиной 578 пар оснований (экзон 1-2), 436 пар оснований (экзон 3) и 377 пар оснований (экзон 4). Ампликоны по продуктам экзона 3 и экзона 4 мигрируют с аналогичной скоростью через агарозный гель. Эти ампликоны появляются вместе в виде одной утолщённой полосы (длина одного края составляет 377 пар оснований, а другого края - 436 пар оснований).
- Внутренние наблюдения показали, что если видны две полосы, т.е. одна «нормальная» полоса и одна «толстая» полоса, после проверки 10 мкл амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат можно получить с помощью анализа олигонуклеотидными зондами (LiPA).

**Проверка достоверности**

- Включать, по меньшей мере, один отрицательный и один положительный контрольный образец каждый раз при выполнении амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует изучить возможность включения дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой

- процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

**Ограничения процедуры**

- Использование этого изделия должно ограничиваться только персоналом, хорошо обученным в области методов амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может стать причиной полностью неудавшегося анализа!
- Порошок из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторное замораживание/оттаивание образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.

- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке связывания с праймером считается очень низким, поскольку никогда не наблюдался неудовлетворительный результат праймера, и было протестировано значительное количество аллелей по всем группам. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведённых процедур обеспечивают специфическую амплификацию.
- Только для использования в лабораторных условиях.

#### **Выполнение теста**

Результативность набора «INNO-LiPA HLA-A Multiplex» оценивалась в 4 европейских лабораториях по типированию тканей на стандартных серийных пробах. Всего было проанализировано 346 образцов. ДНК была выделена из свежей или замороженной крови, антикоагулированной EDTA или цитратом. Методы выделения ДНК включили в себя: высаливание, наборы для выделения ДНК из крови QIAamp 96 (Qiagen), набор для очистки геномной ДНК (Promega) и Puregene (Системы Gentra). Свежая или замороженная ДНК была амплифицирована, используя термоциклеры Системы для ПЦР GeneAmp® PE-9600 или PE-9700. Ампликоны хранились при температуре 2-8°C или в диапазоне от -25 до -15 °C, перед тем как они были нанесены на индикаторные полосы.

#### **Чувствительность**

Внутренняя оценка серии разведения 3 образцов ДНК, варьируясь в пределах от 0,01 мкг/мкл до 2 мкг/мкл, показала, что все образцы были видны на агарозном геле и были отнесены к соответствующему типу правильно.

Внешняя оценка качества работы включала в себя 346 образцов ДНК с концентрацией от 20 мкг/мкл до 1500 мкг/мкл и с чистотой ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}} \geq 1,5$ ). ДНК была разведена до концентрации от 20 мкг/мкл до 250 мкг/мкл перед амплификацией. Неудовлетворительных результатов амплификации не обнаружено, хотя повторное проведение теста потребовалось для 1 образца из одного центра.

#### **Точность (внутренние данные)**

Два образца были амплифицированы в четырёх одинаковых экземплярах, в двух разных сериях опытов, двумя разными лицами.

Все образцы были видны на агарозном геле. Реактивность зондов была сопоставимой во всех комбинациях. Интерпретация результатов была идентичной во всех случаях.

#### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.

- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными торговыми знаками компании «Applied Biosystems, LLC».





(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FRI87251**  
80336 INNO-LiPA HLA-DQB1 Update  
28809 v5  
2020-01-28  
стр. 1/16  
Английский

## INNO-LiPA HLA-DQB1 Update



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР, БР, КО, УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

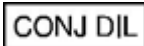
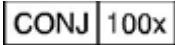
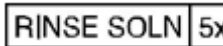
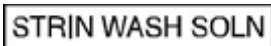
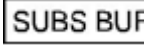
| Пн | Вт | Ср | Чт | Пт | Сб | Вс |
|----|----|----|----|----|----|----|
| ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☐  | ☐  |

© Fujirebio Europe N.V.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                               | 3  |
| Предусмотренное применение .....                                            | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                           | 3  |
| Реагенты .....                                                              | 4  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 4  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                             | 6  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                       | 7  |
| Образец.....                                                                | 8  |
| Процедура работы.....                                                       | 8  |
| Работа с полосками .....                                                    | 8  |
| Указания по ручной инкубации .....                                          | 9  |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках.....                           | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                      | 10 |
| Процедура анализа ручным методом .....                                      | 10 |
| Образцы .....                                                               | 10 |
| Денатурация и гибридизация.....                                             | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                       | 11 |
| Окрашивание .....                                                           | 12 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> .....                   | 12 |
| Результаты.....                                                             | 13 |
| Считывание.....                                                             | 13 |
| Подтверждение.....                                                          | 13 |
| Интерпретация результатов .....                                             | 13 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....               | 14 |
| Ограничения процедуры.....                                                  | 14 |
| Проведение анализа .....                                                    | 14 |
| Точность .....                                                              | 15 |
| Разрешение (таблица типирования, версия v2.x/2001-10-29).....               | 15 |
| Реакционная способность зонда .....                                         | 15 |
| Чувствительность .....                                                      | 16 |
| Прецизионность.....                                                         | 16 |
| Торговые знаки .....                                                        | 16 |

**Используемые обозначения**

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Производитель                                                           |
|    | Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)  |
|    | Код партии                                                              |
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|    | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|    | Конъюгат разбавитель                                                    |
|   | Конъюгат 100x                                                           |
|  | Раствор для денатурирования                                             |
|  | Раствор для гибридизации                                                |
|  | Раствор для промывания 5x                                               |
|  | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски                                                                 |
|  | Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

**Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-DQB1 Update – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения in vitro (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) аллелей.

**Принцип проведения испытания**

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом

денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-DQB1 Update для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA- DQB1 Multiplex). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 1 типизирующей полосы, на которой находятся 37 последовательно-специфических зондов и 2 контрольные линии (Рисунок 1, см. Результаты).

### **INNO-LiPA HLA-DQB1 Update: шаги**

Шаг 1 Мультиплексная амплификация экзонов от 2 до 3 локуса HLA- DQB1

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 37 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-DQB1 Update (56°C)

Шаг 3 Проявление цвета

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда

INNO-LiPA HLA-DQB1 Update разработан с целью найти лучшее разрешение, используя метод обратной гибридизации на аллельном уровне (это отображается в четырёх первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA)).

### **Реагенты**

#### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все не вскрытые и хранящиеся при температуре 2 – 8°C реагенты для анализа, включая покрытые индикаторные полоски, остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Все реагенты и пластмассовые пробирки с индикаторными полосками необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Набор должен храниться отдельно от любого источника заражённого ДНК, в особенности амплифицированных ДНК продуктов.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

*Предоставляемые реагенты:*

| <b>Компонент</b>                                                   | <b>Количество</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                                                            | 1 x 20            | 57033        | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DQB1 Update с бордовой полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Раствор для денатурации                                            | 1 x 1 мл          | 56718        | Щелочной раствор с содержанием этилендиаминтетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Раствор для гибридизации                                           | 1 x 80 мл         | 56719        | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Раствор для жёсткой промывки                                       | 1 x 200 мл        | 56720        | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Конъюгат разбавитель                                               | 1 x 80 мл         | 56951        | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                                      | 1 x 0,8 мл        | 60685        | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Субстратный буфер                                                  | 1 x 180 мл        | 56953        | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий | 1 x 0,8 мл        | 56954        | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

|                           |          |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------|----------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 100x                      |          |       | необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте.                                                                  |
| Раствор для промывания 5x | 1 x 80мл | 56721 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% MIT/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизованной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C. |
| Инкубационный планшет     | 3        |       | Каждый содержит по 8 лунок.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Считывающая карта         | 1        |       | Для определения положительных зондов.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Листок учёта данных       | 2        |       | Для хранения отработанных полосок.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

#### **Не предоставляемые необходимые материалы:**

- INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex.
- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56°C±0,5°C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

#### *Рекомендации по использованию орбитальных шейкеров:*

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

#### *Рекомендации по использованию возвратно-поступательных шейкеров:*

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

#### *Рекомендации по использованию колебательных шейкеров с платформой:*

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.
- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.

- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа ( $\pm 1$  минута).

## Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий. Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P363



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолиум дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х  
H312 H319 H332 H360D  
P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

### Краткая характеристика опасностей

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

### Меры

#### предосторожности

|                |                                                                                                                                                             |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                                                                                                            |
| P260           | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                                                                                                            |
| P261           | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                                                                                                  |
| P280           | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.                                                                                |
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                                                                    |
| P302+P352      | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.                                                                                            |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой под душем.                                            |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить |



- промывание.
- P308+P313 Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.
- P310 Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.
- P333+P313 При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.
- P363 Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.
- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа.
- Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.
- Прозеинфицировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
  - Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
  - Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия.
- Перед уничтожением дать постоять ночь. **ВНИМАНИЕ:** перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.
- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
  - С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

## Образец

Так как тест INNO-LiPA HLA-DQB1 Update в качестве образца использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации набор для амплификации INNO-LiPA HLA- DQB1 Multiplex.

## Процедура работы

### *Работа с полосками*

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте карандаш для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До расшифровки, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.

- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25 °C.
- Не используйте повторно лунки.

### **Указания по ручной инкубации**

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание получения ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-отрицательных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда **закрывайте** крышку водяной бани с качающейся платформой во время инкубации, чтобы избежать получения ложно-положительных сигналов.
- **Не используйте шейкер с горячим воздухом** для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для окрашивания должны проходить при температуре между 20 и 25 °C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.
- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее следует не допускать проливание жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперёд так, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунок.
- Не накрывайте планшет. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

**Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательного присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетечь в один конец лунки.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Erpendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения теста.

**Заметка:**

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Удаляйте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

**Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами после и до амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждого образца аликвоты.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

**Процедура анализа ручным методом**

- Заметка: В течение разных инкубационных этапов, индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.

**Образцы**

1. Амплифицированный HLA-DQB1 продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями по использованию INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex.

- Заметка: Убедитесь, что добавили именно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к ошибочным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль) используйте 10 мкл).

### ***Денатурация и гибридизация***

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество полосок INNO-LiPA HLA-DQB1 Update из колбы (по одной полоске для каждого тестового образца). Внесите обе полоски в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше бордовой линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.
  - Примечание: Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы; ознакомьтесь с инструкцией по использованию INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять 5 минут при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ .
6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждую лунку. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте инфицирования соседних лунок во время работы с пипеткой.
7. Немедленно положите полоску в лунку. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.
  - Примечание: Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет
8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.
  - Примечание: Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между  $1/3$  и  $1/2$  высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательно присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в

водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 3 минут.

3. После инкубации достаньте планшет из водяной бани и удалите жидкость из лунки.
4. Повторите ещё раз этап трёхминутной инкубации и этап аспирации.
5. В конце, добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 4 минут.
  - Примечание: В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

### **Окрашивание**

Последовательная инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Промывайте каждую полоску в течение 1 минуты, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Инструкцию по замене жидкости в лунках).
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение 30 минут, взбалтывая планшет в шейкере.
  - Примечание: Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.
3. Промойте каждую полоску дважды по минуте с использованием рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.
  - **ВНИМАНИЕ:** Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.
5. Остановите проявление цвета, промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.
6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до анализа результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### **Процедура автоматического анализа: Auto-LiPA**

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, Auto-LiPA разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания.

Auto-LiPA характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. За более подробной информацией и специфическими условиями использования Auto-LiPA, пожалуйста, обратитесь в компанию «Fujirebio Europe N.V.» или к Вашему местному распространителю.

## Результаты

### Считывание

На рисунке 1 показано расположение разных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DQB1 Update. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.

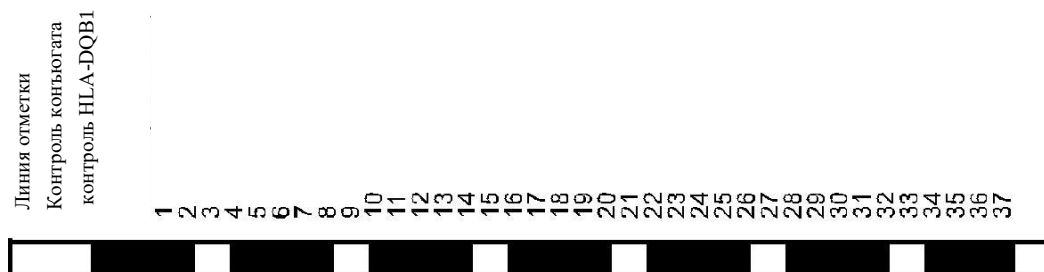


*Рисунок 1: расположение линии отметки (бордовой линии), контрольная линия конъюгата, контрольная линия HLA-DQB1 Update, 37 последовательно-специфических зондов ДНК на полосках INNO-LiPA HLA-DQB1 Update.*

### Подтверждение

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самые верхние линии на INNO-LiPA HLA-DQB1 Update полосках (Рисунок 1) являются линиями отметки (бордовая линия). Эти линии позволяют правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной (если нет: нельзя производить типирование!) и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.
- Следующая линия – линия внутреннего контроля гибридизации HLA-DQB1 Update (контроль HLA-DQB1 Update на считывающей карте), которая показывает, достаточное ли количество амплифицированного материала HLA-DQB1 было добавлено для гибридизации.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

### Интерпретация результатов

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.

- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полосу (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первых двух линий).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DQB1 Update и определите тип HLA- DQB1, используя таблицу типирования INNO-LiPA HLA-DQB1 Update или версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS).

### **Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Чтобы получить последнюю обновлённую версию, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

### **Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмом за пределами области зондов.
- «Типирование невозможно» (программное обеспечение LiRAS): может появиться из-за новых аллелей, у которых имеются полиморфизмы в области зондов.
- Линии контроля HLA-DQB1 Update являются характерными не только для HLA-DQB1, но и практически для всех HLA-DPB1 и HLA-DRB1, 3, 4, 5 аллелей. Следовательно, контрольная линия HLA- DQB1 может вступать в реакции с продуктами амплификации HLA-DPB1 и HLA-DRB1, 3, 4, 5.

### **Проведение анализа**

Проведение INNO-LiPA HLA-DQB1 Update оценивалось в 3 европейских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования. Всего было проанализировано 299 образцов. ДНК была выделена из образца крови с добавлением этилендиаминтетрауксусной кислотой (против коагуляции) или с цитратным антикоагулянтом. Методами выделения ДНК являлись: высаливание, набор QIAamp 96 DNA blood kit (Qiagen). Свежая или замороженная ДНК амплифицировалась с помощью INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex с использованием термоблоков PE 9600 или PE9700 системы GeneAmp PCR. До нанесения на полоски ампликоны хранились при температуре 2-8 °C.

Образцы обрабатывались с помощью приборов *Auto-LiPA* и интерпретировались с помощью клинической испытательной версии интерпретационного программного обеспечения LiRAS.

**Точность**

Результат типирования HLA-DQB1 был получен для всех 299 образцов. Проведение повторного анализа понадобилось для 2 образцов из одного центра.

Точность на аллельном уровне рассчитывалась как процент наблюдавшихся совпадений с альтернативными анализами ДНК (LiPA HLA-DQB, Fujirebio Europe N.V.; Micro SSP Allele Specific HLA Class II DNA Typing Tray – DQB1, One Lambda, Inc.; Dynal RELI SSO HLA-DQB1 Test, Dynal Biotech). Результаты INNO-LiPA HLA-DQB1 Update рассматривались как схожие с результатом эталонного анализа, если оба результата были идентичны, если результаты INNO-LiPA HLA-DQB1 Update были более точными по сравнению с результатом эталонного анализа, или если результаты INNO-LiPA HLA-DQB1 Update показали более низкую степень разрешения, но верный результат в сравнении с эталонным методом. Точность составила 100% (299/299).

**Разрешение (таблица типирования, версия v2.x/2001-10-29)**

INNO-LiPA HLA-DQB1 Update разработан с целью разрешить аллели HLA-DQB1 на аллельном уровне. «Аллельный уровень» – обозначение четырёх первых символов после звёздочки в стандартной классификации HLA (напр. HLA-DQB1\*0201).

Теоретически, разделение на аллельном уровне (т.е. 4 символов) составляет 92,7%. Разделение на аллельном уровне, наблюдавшееся в процессе данного исследования, составило 85,6% (256/299). Несоответствия, для которых возможности различались только относительно молчащих мутаций (т.е. пятого символа после звёздочки), не учитывались в данном подсчёте. Наблюдались 8 разных несоответствий: DQB1\*0602xDQB1\*0609 или DQB1\*0612xDQB1\*0615 (4 случая), DQB1\*0302xDQB1\*0603 или DQB1\*0308xDQB1\*0607 (4 случая), DQB1\*0602xDQB1\*0603 или DQB1\*06111xDQB1\*0614 (6 случаев), DQB1\*0302xDQB1\*0602 или DQB1\*0308xDQB1\*0615 (7 случаев), DQB1\*0302xDQB1\*06041 или DQB1\*0302xDQB1\*0617 (3 случая), DQB1\*03011xDQB1\*0302 или DQB1\*03032xDQB1\*0304 (10 случаев), DQB1\*0603xDQB1\*0609 или DQB1\*06041xDQB1\*06112 или DQB1\*0607 DQB1\*0612 (2 случая), DQB1\*03011xDQB1\*06042 или DQB1\*03011xDQB1\*0617 (7 случаев). Тем не менее, даже при наличии этих несоответствий у INNO-LiPA DQB1 Update всегда было более высокое разрешение, чем у эталонных исследований LiPA HLA-DQB (8 различных несоответствий, 21 образец) и Dynal RELI (5 различных несоответствий, 11 образцов), за исключением двух образцов, у которых INNO-LiPA DQB1 Update и Dynal RELI выявили одно и то же несоответствие. Разрешение было ниже, чем у эталонного SSP (Ona Lambda) для 5 несоответствий (9 образцов).

Более того, в 199 случаях несоответствия, выявленные с помощью эталонного метода (113 LiPA HLA-DQB, 2 SSP, 84 Dynal RELI) были сведены к одному чётко определённом результату типирования с помощью INNO-LiPA HLA-DQB1 Update.

**Реакционная способность зонда**

Один зонд реагировал ложно-положительно, и один зонд слабо или ложно-отрицательно в одном или более случаях в течение данного клинического испытания. Данная информация, если ещё не была представлена, была реализована в программном обеспечении и/или руководствах с целью облегчить последующее типирование. С использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS были выявлены



все ложные реакционные способности и было достигнуто конкордантное типирование на аллельном уровне.

Обратитесь к руководству для получения дополнительной информации о реакционной способности зонда.

Доступен полный список особенностей зондов и праймера. Все зонды предназначены исключительно для гибридизации в комплементарной последовательности на уровне одного несовпадения, если иное не указано в списке.

### ***Чувствительность***

Согласно результатам, полученным от внутренней оценки серии растворов 3-х образцов ДНК с концентрацией, варьирующейся от 0.01мкг/мкл до 2мкг/мкл, рекомендуется использование ДНК с минимальной концентрацией 0,02 мкг/мкл.

Внешняя оценка включала 299 образцов ДНК с концентрацией между 18 мкг/мкл и 1600 мкг/мкл и со степенью гомогенности ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ ) $\geq 1,3$ . Согласно результатам, полученным на агарозном геле, ошибок амплификации не встречалось. Результат LiPA одного образца выявил нарушение амплификации экзона 3. После повторного тестирования амплификация/гибридизация прошла успешно.

### ***Прецизионность***

#### Внутренние данные:

В трёх параллельных анализах двумя разными людьми ручным методом анализа или одним человеком на двух разных приборах Auto-LiPA было испытано три образца. Реакционная способность зондов была сопоставима во всех случаях. Анализ результатов был одинаковым для всех образцов.

#### Внешнее подтверждение:

- изменчивость между партиями оценивалась путём анализа панели (5 образцов с известной реакционной способностью и интерпретацией) с двумя разными пробами продукции. Для каждого образца был получен один и тот же результат типирования независимо от использовавшейся пробы.
- межлабораторная изменчивость оценивалась путём анализа одной и той же панели тремя центрами. Все центры получили одинаковые результаты типирования для пяти образцов.

### **Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.),зарегистрированный в США.
- GeneAmp® является зарегистрированным торговым знаком компании «Applied Biosystems, LLC»
- QIAamp® является зарегистрированным торговым знаком компании «QIAGEN Group».

## INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## Содержание

|                                                                            |   |
|----------------------------------------------------------------------------|---|
| Используемые символы .....                                                 | 2 |
| Предполагаемое использование.....                                          | 2 |
| Принцип проведения анализа .....                                           | 3 |
| Реагенты .....                                                             | 3 |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения..... | 3 |
| Материалы, которые требуются, но не предоставляются.....                   | 3 |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды.....                | 4 |
| Отбор, подготовка и хранение образцов.....                                 | 4 |
| Извлечение ДНК.....                                                        | 4 |
| Подготовка смеси ПЦР.....                                                  | 4 |
| ПЦР циклирование .....                                                     | 4 |
| Примечания и меры предосторожности.....                                    | 4 |
| Процедура анализа.....                                                     | 5 |
| Результаты.....                                                            | 6 |
| Визуализация .....                                                         | 6 |
| Проверка достоверности .....                                               | 6 |
| Ограничения процедуры.....                                                 | 6 |
| Эффективность анализа .....                                                | 7 |
| Диапазон применения .....                                                  | 7 |
| Достоверность .....                                                        | 7 |
| Товарные знаки.....                                                        | 7 |

### Используемые символы

**AMP KIT**



Комплект для амплификации  
Производитель

**IVD**

Медицинский прибор для диагностики *в лабораторных условиях*

**LOT**

Код партии

**REF**

Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры

**AMPL BUF**

Буферный раствор для амплификации

**LiPA Taq**

LiPA Taq

**PRIMER SOLN**

Раствор праймера

### Предполагаемое использование

Набор INNO-LiPA HLA-DQB1 для использования *в лабораторных условиях* предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты 2 и 3 эксона локуса DQB1 человеческого лейкоцитарного антигена (HLA).

Реакция происходит посредством полимеразной цепной реакции (PCR) в мультиплексном формате.

## Принцип проведения анализа

Образец ДНК для амплификации PCR помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTP), биотинилированные праймеры, а также термоустойчивую ДНК-полимеразу. Праймеры амплифицируют целевую последовательность ДНК, указанную в пункте 'Предполагаемое использование'.

При нагреве отделяются две нити спирали ДНК (денатурация) для того, чтобы праймеры смогли воздействовать на целевые последовательности. Эти праймеры комплементарны участкам, фланкирующим целевую последовательность.

Поэтому, после охлаждения до определенной температуры праймеры привяжутся к своему целевому участку (отжиг).

При другой температуре и с использованием dNTP термоустойчивая ДНК-полимераза растянет отоженные праймеры по целевой матрице (расширение). Таким образом после одного цикла денатурации, отжига и расширения будут получены две точные биотинилированные копии матричной последовательности. После нескольких циклов будет получено большое количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить вдали от источников загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.
- Реагенты для амплификации всегда должны находиться в помещении, свободном от амплифицированной ДНК.  
Должны использоваться стерилизованные в автоклаве пробирки и микродозаторы (желательно закрытые ватными пробками).
- При условии хранения при температуре -15/-25°C в открытом или закрытом виде, в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить реагенты аликвотами (кроме LiPA-Taq) после первого использования и затем хранить при температуре -15/-25°C.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                  | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|---------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл    | 56982        | Содержит все dNTP и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять.                                                                                                                                      |
| Раствор праймера                  | 1 x 0,3 мл    | 57027        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> , Tris буфер и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился и доведите до температуры 20 - 25°C. |
| LiPA-Taq                          | 2 x 0,035 мл  | 700093       | Содержит ДНК-полимеразу «горячего старта» (2ед./мкл) в качестве консерванта. Хранить от -15 до -25°C до непосредственного использования.                                                                                                               |

### Материалы, которые требуются, но не предоставляются

- Материалы для извлечения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные микродозаторы (желательно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Стойки для микропробирок.

- Центрифуга для микропробирок.
- ДНК термоциклер и оборудование
- Пипетки переменной ёмкости на 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Дистиллированная вода, стерилизованная в автоклаве.
- Минеральное масло (при необходимости).

#### **Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- **См Формуляр с данными по технике безопасности (MSDS) и этикетку на продукта для получения дополнительной информации о потенциально опасных компонентах. Последняя версия MSDS доступна на вебсайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com) .**
- Только надлежащим образом обученный персонал должен быть допущен для проведения испытаний.
- С образцами следует обращаться как с потенциальным источником инфекции.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- С отходами следует обращаться в соответствии с рекомендациями по утилизации отходов. Также следует соблюдать федеральное, государственное и местное экологическое законодательство.

#### **Отбор, подготовка и хранение образцов**

##### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Реагенты не поставляются.

#### **Извлечение ДНК**

Для подготовки геномной ДНК могут использоваться широко распространенные методы извлечения ДНК высаливанием или методы на основе центрифужных колонок начиная с кислого цитрата декстрозы (ACD) - или этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) – образцы антикоагулированной цельной крови.

Образцы ДНК следует хранить при температуре -15/-25°C.

**Извлеченная ДНК должна иметь концентрацию от 0,02 мкг/мкл до 1,5 мкг/мкл.**

**Чистота (A260nm/A280nm) должна составлять  $\geq 1,5$ .**

#### **Подготовка смеси ПЦР**

Все компоненты следует добавлять в правильном количестве. Чрезмерное или недостаточное количество образца или реагентов может привести к аспецифической амплификации или к тому, что амплификация вообще не произойдет.

#### **ПЦР циклирование**

Следует выбрать правильный температурный профиль INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex.

#### **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать ДНК загрязнения, рекомендуется максимальное физическое разделение между пред- и после- амплификационными этапами: отдельные комнаты, разные пипетки и прочие лабораторные материалы, разные лабораторные халаты и перчатки (и их запас) - это минимальные меры предосторожности для надлежащей лабораторной практики.
- Избегайте обратного перемещения материалов из постамплификационной комнаты в предамплификационную комнату.

- Все микродозаторы и пробирки, которые используются в процессе амплификации, должны быть стерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать микродозаторы в ватными пробками. Для каждого расфасованного аликвотами образца следует использовать новый стерильный микродозатор
- Должны использоваться стерилизованные в автоклаве пробирки и микродозаторы (желательно закрытые ватными пробками).
- После разморозки смешайте в вортекс-миксере раствор для амплификации и раствор праймера и осадите все реагенты, особенно LiPA-Taq.

## Процедура анализа

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Данный протокол для амплификации эксона 2 и эксона 3 гена HLA-DQB1 предназначен для оптимальной амплификации с использованием PCR пробирок MicroAmp® (0,5 мл), термоциклеров PE-480 или PCR пробирок MicroAmp® (0,2 мл), термоциклеров GeneAmp® 9700 и LiPA-Taq.  
Данный протокол может использоваться для большинства коммерческих термоциклеров, однако может потребовать некоторых изменений, указанных производителем термоциклера.
  - Перед использованием следует определить совместим ли протокол с термоциклером, который используется в вашей лаборатории. **Перед использованием термоциклер должен быть обязательно откалиброван.**
  - Следует принять необходимые меры предосторожности во избежание неспецифичной амплификации и формирования димеров праймера, что может негативно повлиять на результаты:
    - Выполните пипетирование без задержки.
    - Подогрейте ( $95^{\circ}\text{C} \pm 0.75^{\circ}\text{C}$ ) нагревательный блок термоциклера перед тем как поместить в него образцы, после чего немедленно начните процесс циклирования.
1. Разбавьте каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 1.5 мкг/мкл в ТЕ буфере.
  2. Определите сколько нужно приготовить флаконов (N) в количестве:  
 $N = \text{количество образцов ДНК} + 1 \text{ (негативный контроль; нет ДНК)} + 1$   
При помощи микродозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовьте основной раствор в стерилизованной в автоклаве 1,5 мл пробирке:  
(N x 24 мкл) дистиллированной воды, стерилизованной в автоклаве  
+ (N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации  
+ (N x 10 мкл) раствор праймера HLA-DQB1  
+ (N x 1,0 мкл) LiPA-Taq (N x 2 U)  
  
Общий объем амплификационного раствора теперь составляет (N x 45 мкл).  
Немного смешайте в вортекс-миксере и расфасуйте аликвотами 45 мкл данного основного раствора в (N-1) стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации.
  3. При необходимости добавьте в каждую пробирку 2 капли (~40 мкл) минерального масла (например, при использовании PE-480).  
Пипетируйте 5 мкл (от 0,1 до 7,5 мкг) геномной ДНК (через минеральное масло при необходимости).  
Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку негативного контроля.  
ПРИМЕЧАНИЕ:
    - Не перемешивайте.
    - Проверьте, чтобы смесь для амплификации находилась на дне пробирки.
  4. Поместите образцы в предварительно нагретый и откалиброванный нагревательный блок (см. инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, предназначенную для амплификации HLA-DQB1 Multiplex.

## Профиль амплификации IDQB1 Multiplex

| Тип циклера |                      |                    | PE-480       | PE-2400<br>PE-9600<br>PE-9700 |                                   |
|-------------|----------------------|--------------------|--------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| <u>Шаг</u>  |                      | <u>Температура</u> | <u>Время</u> | <u>Время</u>                  |                                   |
| 1           | активация            | 95°C               | 5 мин        |                               |                                   |
| 2           | денатурация          | 95°C               | 5 мин        | 5 мин                         |                                   |
| 3           | денатурация          | 95°C               | 20 сек.      | 20 сек.                       | 35 раз<br>повторить<br>шаги 3 - 5 |
| 4           | отжиг праймеров      | 58°C               | 20 сек.      | 20 сек.                       |                                   |
| 5           | расширение праймеров | 72°C               | 20 сек.      | 20 сек.                       |                                   |
| 6           | растягивание         | 72°C               | 10 мин       | 10 мин                        |                                   |
| 7           | удержание            | 4°C                |              |                               |                                   |

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Такой же профиль амплификации используется для всех продуктов II класса INNO-LiPA HLA, за исключением амплификации INNO-LiPA HLA-DPB.

После амплификации сразу же используйте образцы с полосами INNO-LiPA HLA-DQB1 Update или храните при температуре -25/-15°C.

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не храните амплифицированные DNA продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты****Визуализация**

- Присутствие ампликонов может быть проверена 2% агарозным гелем. В каждый слот поместите 10 мкл амплифицированного продукта. Амплификация INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex создаст два ампликона размером 261 bp (экзон 2) и 250 bp (экзон 3). Эти ампликоны с одинаковой скоростью перемещаются по агарозному гелю и появляются вместе в виде одного более толстого диска (у которого один край 250 bp, а второй край 261 bp).
- Наблюдения внутри компании показали, что после проверки 10 мкл амплифицированного продукта 2% агарозным гелем виден один 'толстый' диск после проверки, при анализе LiPA может быть получен интерпретируемый результат.

**Проверка достоверности**

- Каждый раз анализ проводится с одним негативным амплифицированным контрольным образцом. Как и случае процедуры любого нового анализа, включение дополнительных позитивных и негативных контролей учитывается пока достигается высокая степень достоверности в возможности правильного выполнения процедуры анализа. Если необходимо включение дополнительного позитивного контроля, используйте известный позитивный образец.
- Если для негативного контроля в геле получен позитивный диск, весь процесс обработки следует отменить и полностью повторить всю процедуру.

**Ограничения процедуры**

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Ингибирование полимеразы, (например, гепарином, гемоглобином) может быть причиной полного прекращения анализа.
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия действует при амплификации как ингибиторы.
- Повторная заморозка/разморозка образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.

- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несовпадения на участках праймера считается слишком низким, так как ошибка праймера еще никогда не наблюдалась и было проанализировано значительное количество аллелей, входящих во все группы. Тем не менее, в случае гомозиготного результата следует учитывать вероятность того, что аллели могут быть пропущены
- Только использование надлежащей лабораторной практики и тщательное выполнение определенных процедур обеспечат специфичную амплификацию.

### **Эффективность анализа**

Эффективность INNO-LiPA HLA-DQB1 Multiplex была независимо оценена в трех европейских лабораториях на обычных образцах для типирования. Всего было проанализировано 299 образцов. ДНК была предварительно извлечена из антикоагулянтной EDTA или цитрат-антикоагулянтной крови. Методы извлечения ДНК включали высаливание или набор QIAamp 96 (Qiagen). Свежая или замороженная ДНК была амплифицирована при помощи термоциклеров GeneAmp® PCR PE-9600 или PE-9700. Ампликоны хранились при температуре -20°C перед тем как были помещены на полосы.

### **Чувствительность**

На основании результатов, полученных в ходе внутренней оценки 3 образцов ДНК в концентрации от 0,01 до 2 мкг/мкл, рекомендуется использовать ДНК с минимальной концентрацией 0,02 мкг/мкл.

Независимая оценка эффективности включала 299 образцов ДНК в концентрации от 18 до 1600 нг/мкл с чистотой ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ )  $\geq 1,3$ . В соответствии с результатами на агарозном геле, ошибки амплификации не возникали. Несмотря на это, в одном центре для 2 образцов потребовалось проведение повторной амплификации по причине неудовлетворительных результатов после гибридизации. Результат LiPA по одному образцу показал ошибку амплификации эксона 3. Амплификация/гибридизация была успешной после повторного анализа.

### **Достоверность (внутренние данные)**

Два образца были амплифицированы в четырех экземплярах двумя разными людьми в двух разных циклах. Реактивность зондов LiPA была идентичной во всех комбинациях. Интерпретация результатов была идентичной во всех случаях.

### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными торговыми знаками компании «Applied Biosystems, LLC».



(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FRI93064**  
80340 INNO-LiPA HLA-DRB decoder  
28817 v4  
2020-01-22  
стр. 1/17  
Английский

## INNO-LiPA HLA-DRB decoder



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР, БР, КО, УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

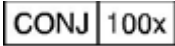
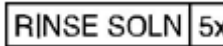
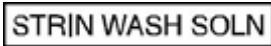
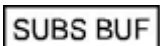
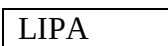
| Пн | Вт | Ср | Чт | Пт | Сб | Вс |
|----|----|----|----|----|----|----|
| ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☐  | ☐  |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                                   | 3  |
| Предусмотренное применение .....                                                | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                               | 4  |
| Реагенты .....                                                                  | 5  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения .....     | 5  |
| Не предоставляемые необходимые материалы .....                                  | 7  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                           | 8  |
| Образцы.....                                                                    | 9  |
| Процедура работы.....                                                           | 9  |
| Работа с полосками .....                                                        | 9  |
| Указания по ручной инкубации .....                                              | 10 |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках .....                              | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                          | 11 |
| Процедура ручного тестирования .....                                            | 11 |
| Образцы .....                                                                   | 11 |
| Денатурация и гибридизация.....                                                 | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                           | 12 |
| Проявление цвета .....                                                          | 13 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> .....                       | 13 |
| Результаты.....                                                                 | 13 |
| Считывание.....                                                                 | 13 |
| Подтверждение.....                                                              | 14 |
| Интерпретация результатов .....                                                 | 14 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....                   | 14 |
| Ограничения процедуры:.....                                                     | 14 |
| Проведение теста .....                                                          | 15 |
| Проведение .....                                                                | 15 |
| Реакционная способность зонда .....                                             | 15 |
| Область применения .....                                                        | 15 |
| Разрешение (Использувавшаяся таблица типирования: K-1067/v.5.x/1998-02-20)..... | 15 |
| Воспроизводимость.....                                                          | 17 |
| Точность .....                                                                  | 17 |
| Статистика по образцам.....                                                     | 17 |
| Торговые знаки .....                                                            | 17 |

**Используемые обозначения**

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Производитель                                                           |
|    | Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)  |
|    | Код партии                                                              |
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|    | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|    | Конъюгат 100x                                                           |
|   | Конъюгат разбавитель                                                    |
|  | Раствор для денатурирования                                             |
|  | Раствор для гибридизации                                                |
|  | Раствор для промывания 5x                                               |
|  | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски 1                                                               |
|  | Полоски 2                                                               |
|  | Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

**Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-DRB decoder – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения in vitro (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) аллелей DRB, как DRB1, DRB1+DRB3, DRB1+DRB4 или DRB1+DRB5.

**Принцип проведения испытания**

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-DRB decoder для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-DRB decoder Amplification). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 2 типизирующих полос, на которых находятся 62 последовательно-специфических зонда и 2 контрольные линии.

**INNO-LiPA HLA-DRB decoder: шаги**

Шаг 1 Амплификация экзона 2 аллелей DRB 1+3+4+5, используя праймеры DRB 1+3+4+5.

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 62 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-DRB decoder (56°C).

Шаг 3 Проявление цвета.

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда.

Шаг 5 При необходимости интерпретационное программное обеспечение LiRAS предложит, какой этап амплификации и гибридизации сделать следующим.

Для высокой степени разрешения аллелей DRB необходимо провести амплификацию второго экзона аллелей DRB1+3+4+5, используя имеющийся набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-DRB decoder Amplification). В процессе использования INNO-LiPA HLA-DRB decoder Amplification становятся возможными некоторые функции, описанные ниже. Рекомендуется начать с (а) и продолжить с (b), а затем при необходимости следовать рекомендациям программы для дальнейшего тестирования.

(а) до анализа с помощью полосок 1 и 2 INNO-LiPA HLA-DRB decoder провести DRB1+3+4+5 амплификацию экзона 2 аллелей DRB1+3+4+5.

(b) до анализа с помощью полосок INNO-LiPA HLA-DRB decoder провести специфическую для групп амплификацию экзона 2 аллелей DRB1.

При наличии первичного раствора DRB1 происходит амплификация экзона 2 всех аллелей DRB1. Экзон 2 аллелей DRB3, DRB4, DRB5 не подвергается ко-амплификации.

Примечание: В связи с абберрантной последовательностью аллеля DRB1\*1130 на позиции праймера DRB1, амплификации с использованием раствора DRB1 для этого аллеля не ожидается.

Аллели DRB показывают либо G (или D) или V последовательность в кодоне 86, в отношении примерно 50:50. Гетерозиготные комбинации обычно содержат оба вида аллелей. Специфическая амплификация только аллелей, показывающих G (или D)

последовательность или только тех аллелей, у которых V последовательность в кодоне 86, до анализа полосками INNO-LiPA HLA-DRB decoder поможет прояснить интерпретацию наблюдаемых реакционных способностей зондов и, следовательно, обнаружить вид аллелей DRB. Наличие на полосках INNO-LiPA HLA-DRB decoder G (или D) последовательности на кодоне 86 будет определено положительностью зонда 43, в то время как наличие V последовательности сделает положительным зонд 43 или зонд 1.

Для первого шага к типированию высокого разрешения рекомендуется производить амплификацию DRB1+3+4+5 и гибридизировать этот продукт амплификации с помощью 62 последовательно-специфических зондов, закреплённых на полосках 1 и 2 INNO-LiPA HLA-DRB decoder. Если полученный результат всё ещё содержит несоответствия, требующие разрешения, на втором самом оптимальном этапе для амплификации и гибридизации можно использовать интерпретационное программное обеспечение (LiRAS).

Примечание:

- Температурный режим для амплификации и анализов LiPA в этом набор абсолютно одинаковый.
- Необходимые для проведения всех реакций амплификации для каждого образца праймеры предоставляются.

#### ***INNO-LiPA HLA-DRB decoder и INNO-LiPA HLA-DRB1***

INNO-LiPA HLA-DRB decoder является набором для типирования DRB1+3+4+5 аллелей более высокого разрешения, не имеющим себе равных (см. выше). После общей амплификации и гибридизации 62 зондами на полосках 1 и 2 для дальнейшего типирования можно следовать рекомендациям интерпретационного программного обеспечения (LiRAS). Если этот же образец типировался ранее в INNO-LiPA HLA-DRB1 (только DRB1 аллели амплифицировались и гибридизировались), возможно привязать этот результат к результату INNO-LiPA HLA-DRB decoder, если используется интерпретационное программное обеспечение (LiRAS).

#### **Реагенты**

##### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все вскрытые и хранящиеся при температуре 2-8°C реагенты, включая покрытые индикаторные полоски, остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты с истёкшим сроком годности.
- Все реагенты необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Набор должен храниться отдельно от любого источника, заражённого ДНК, в особенности амплифицированных продуктов.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

Каждая упаковка содержит:

| <u>Компонент</u> | <u>Количество</u> | <u>Номер</u> | <u>Описание</u> |
|------------------|-------------------|--------------|-----------------|
|------------------|-------------------|--------------|-----------------|

|                                                  |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------|------------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски 1                                        | 1 x 20     | 56955 | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DRB decoder с чёрной полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Полоски 2                                        | 1 x 20     | 56956 | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DRB decoder с чёрной полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Раствор для денатурации                          | 1 x 1 мл   | 56718 | Щелочной раствор с содержанием этилендиаминтетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Раствор для гибридизации                         | 2 x 80 мл  | 56719 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Раствор для жёсткой промывки                     | 2 x 200 мл | 56720 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Конъюгат разбавитель                             | 1 x 150 мл | 55671 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                    | 1 x 1,5 мл | 60687 | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Субстратный буфер                                | 1 x 235 мл | 55732 | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нит | 1 x 1,5 мл | 55723 | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

росиний тетразолий  
100x

(DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте.

Раствор для промывания 5x      2 x 80 мл      56721

Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% MIT/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизированной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.

Инкубационный планшет      5      -

Каждый имеет по 8 лунок.

Считывающая карта      1

Для идентификации положительных зондов.

Листок отчётности      2

Для хранения использованных полос.

#### **Не предоставляемые необходимые материалы:**

- INNO-LiPA HLA-DRB decoder Amplification
- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56 °C +/- 0,5 °C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

#### Рекомендации

##### *Для орбитального шейкера:*

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

##### *Для возвратно-поступательного шейкера:*

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

##### *Для колебательного шейкера с платформой:*

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.

- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа ( $\pm 1$  минута).

#### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий.

Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)

H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)

H317 P261 P280 P333+P313 P363 P302+P352



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолиум дихлорид: Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х

H312 H319 H332 H360D

P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

#### Краткая характеристика опасностей

H312+H332

Опасен при соприкосновении с кожей или при вдыхании

H314

Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз.

H317

Может вызвать на коже аллергическую реакцию.

H319

Вызывает сильное раздражение глаз.

H332

Опасен при вдыхании.

H360D

Может навредить будущему ребёнку

#### Меры предосторожности

P201

Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.

P260

Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.

P261

Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.

P280

Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.

P281

Используйте средства личной защиты согласно требованиям.

P302+P352

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.

P303+P361+P353

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно уберите/снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой/душем.

P305+P351+P338

ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать



- водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание.
- P308+P313 Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.
- P310 Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.
- P333+P313 При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.
- P363 Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.
- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.
    - Простерилизовать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
    - Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
    - Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия.Перед уничтожением дать постоять ночь.
  - ВНИМАНИЕ: перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.
  - Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
  - С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

## Образцы

Так как тест LiPA в качестве образца использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации INNO-LiPA HLA-DRB1 decoder Amplification.

## Процедура работы

### Работа с полосками

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте **карандаш** для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До интерпретации, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.

- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25°C.
- Не используйте повторно лунки.

#### **Указания по ручной инкубации**

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-негативных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда **закрывайте** крышку водяной бани с качающейся платформой во время инкубации, чтобы избежать ложно-положительные сигналы.
- **Не используйте шейкер с горячим воздухом** для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки, лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для определения цвета должны проходить при температуре между 20 и 25°C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.
- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее, следует не допускать проливание жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперёд таким образом, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунки.
- Не накрывайте планшет. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

#### **Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательна присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетекать из одного конца в лунку.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).

- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения теста.

Заметка:

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Высасывайте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

### **Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждой аликвоты образца.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

### **Процедура ручного тестирования**

Заметка:

- В течение разных инкубационных этапов, индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации, с помощью калибровочного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

### **Образцы**

1. Амплифицированный DRB1 продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-DRB decoder.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль; используйте 10 мкл).

### **Денатурация и гибридизация**

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при

температуре не меньше 37°C и не больше 56°C. Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.

2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество полосок INNO-LiPA HLA-DRB decoder из колбы (по одной полоске для тестового образца). Внесите обе полоски в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше чёрной линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.

Примечание:

- Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Инструкцию по использованию INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять **5 минут** при температуре 20-25°C.
  6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл в денатурированный амплифицированный продукт в каждой лунке. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте инфицирования соседних лунок во время работы с пипеткой.
  7. Немедленно положите полоску вверх отмеченной стороной мембраны в лунку. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

Примечание:

- Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет
8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре 56°C±0.5°C (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.

Примечание:

- Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации, достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательно присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку и промойте, недолго (10-20 секунд) потрясите планшет при температуре 20-25°C. Удалите раствор из каждой лунки. Ещё раз повторите короткий этап промывки.
3. В конце удалите раствор и в течение 10 минут инкубируйте каждую полоску в 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в водяной бане с качающейся платформой при температуре 56°C ± 0.5°C. Закройте крышку водяной бани. **До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра измерьте температуру водяной бани и при необходимости измените её. Всегда закрывайте крышку.**

Примечание:

- В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

### **Проявление цвета**

Последующая инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Промывайте каждую полоску в течение **1 минуты**, используя 2 мл рабочего раствора для промывания.
2. Добавьте 2 мл рабочего раствора конъюгата в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

Примечание:

- Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.
3. Промойте каждую полоску дважды по минуте с использованием 2мл рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
  4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

ВНИМАНИЕ:

- Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.
5. Остановите проявление цвета, промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.
  6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до анализа результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### **Процедура автоматического анализа: Auto-LiPA**

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* была разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. За более подробной информацией и специфическими протоколами к *Auto-LiPA*, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

Стандартный 48 протокол *Auto-LiPA* описывает анализ 24 образцов с использованием одной полоски на одну лунку. Это количество, однако, может быть увеличено до максимального – 48. Для выполнения этого две полоски из одного локуса тестируются в одной лунке, сохраняя все остальные параметры протокола неизменными. Обратите внимание на то, что изредка может наблюдаться более слабая реакционная способность зондов. Следовательно, покупателям, желающим увеличить количество образцов, рекомендуется проверить процедуру «2 полоски в одной лунке» в своей лаборатории.

### **Результаты**

#### **Считывание**

Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.

**Подтверждение**

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самая верхняя линия на INNO-LiPA HLA-DRB decoder полоске является линией отметки (чёрная линия на полоске 1 и красная линия на полоске 2). Эта линия позволяет правильно использовать полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.
- Следующая линия – линия положительного контроля HLA-DRB (контроль INNO-LiPA HLA-DRB на считывающей карте), которая обозначает, достаточное ли количество амплифицированного материала было добавлено для гибридизации. Эта линия всегда должна быть положительной, за исключением негативного контроля, но её насыщенность может изменяться от одного образца к другому.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

**Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первых двух линий).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полоске INNO-LiPA HLA-DRB decoder и используя таблицу типирования INNO-LiPA HLA-DRB decoder или версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (LiRAS).

**Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Чтобы получить последнюю обновлённую версию, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

**Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.

- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- Комбинация некоторых аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и, следовательно, к неопределённому результату в виде двух или более возможных сочетаний аллельных групп.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмом за пределами области зондов.
- Последовательность на участке связывания с праймером известна не для всех аллелей. Риск несовпадения на участке связывания с праймером оценивается как очень низкий, т.к. не наблюдалось сбоев при анализе более 80 аллелей из всех групп. Однако необходимо учитывать возможность выпадения аллеля в случае получения гомозиготного результата.

### **Проведение теста**

INNO-LiPA HLA-DRB decoder оценивался в трёх европейских и двух североамериканских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования.

### **Проведение**

Всего с помощью INNO-LiPA HLA-DRB decoder было проанализировано 136 образцов. Результаты сравнивались с принятыми классическими техниками типирования (анализы, основанные на ДНК (INNO-LiPA HLA-DRB код/дешифровщик, SSP) и/или серологией). В ходе исследования INNO-LiPA HLA-DRB1 не наблюдалось ошибок амплификации.

### **Реакционная способность зонда**

Всего с помощью INNO-LiPA HLA-DRB decoder с использованием общего праймера было выявлено 18 ложно-положительных реакций. Отрицательных дисков в ходе исследования выявлено не было. Обратитесь к руководству для получения дополнительной информации о реакционной способности зонда. Доступен полный список зондов и особенностей праймера. Все зонды предназначены исключительно для гибридизации в комплементарной последовательности на уровне одного несовпадения, если иное не указано в списке.

### **Область применения**

Нижняя граница области применения определялась с использованием титрации ДНК. Всего лишь 0,05 мкг экстракта ДНК ( $A_{260nm}/A_{280nm} > 1,5$ ) может быть использована в сопутствующем анализе амплификации, оставляя более чем достаточно ДНК для выявления в LiPA.

### **Разрешение (Использовавшаяся таблица типирования: K-1067/v.5.x/1998-02-20)**

В ходе исследования было достигнуто широкое типирование без несоответствий, после анализа двух полосок (DRB1+3+4+5), для 82/106 (77% - данные имеются только из четырёх центров) образцов. Это количество увеличилось до 122/136 (90%) после дополнительного анализа с использованием специфических (DRB1, 86G & 86V) настроек праймера по рекомендации программного обеспечения LiPA-Expert.

Полное однозначное аллельное типирование было достигнуто у 37/136 (27%) образцов после всех рекомендуемых амплификаций. Всего 71 образец (52%) предоставил

уникальное аллельное типирование в локусе DRB1, оставив несоответствия на ассоциированных аллелях.

Примечание: «Полное однозначное аллельное типирование» не учитывало известные несоответствия, перечисленные в таблице типирования, например DRB4\*01011, -03, 03N, -04, -05.

Всего было описано 14 результатов с несоответствиями. Они возникли из четырёх комбинаций зондов и определялись следующими сочетаниями аллелей:

DRB1\*03 х \*11/\*13 (3 образца)

DRB1\*04 х \*11/\*13 (1 образец)

DRB1\*01 х \*13/\*14 (2 образца)

и DRB1\*03 х \*13/\*15 (8 образцов)

Один антиген являлся несоответствием для DRB1\*11/\*13 в 4/54 (7,4%) образцах, в которых присутствовал либо DRB1\*11, либо DRB1\*13. Программное обеспечение LiPA-Expert определило эти вызывающие несоответствия аллели следующим образом: DRB1\*0308 х \*1324 (два образца), DRB1\*0308 х \*1311 (один образец), DRB1\*0415 х \*1322 (один образец).

Три случая, где DRB1\*13 выступает как альтернативная DRB1\*11 аллельная группа, возникли при наличии DRB1\*0308. Это редкий аллель, имеющий последовательность, очень похожую на DRB1\*03011, за исключением триплета 58, в котором имеется сходство с аллельной группой DRB1\*11. Особые DRB1\*13 аллели (DRB1\*1311 и \*1324) считаются редкими.

Четвёртый случай, где DRB1\*13 выступает как альтернативная DRB1\*11 аллельная группа, возник при наличии DRB1\*0415. Этот аллель DRB1\*04 и два возможных аллеля DRB1\*13 (DRB1\*1322, \*1323) характеризуются низкой частотностью. Один антиген был несоответствующим для DRB1\*13/\*14 в 2/45 (4,4%) образцах, где встречался либо DRB1\*13, либо DRB1\*14. Аллели, вызывающие несоответствия, программное обеспечение LiPA-Expert определило как DRB1\*01013 х \*1430 (2 образца).

В обоих случаях, когда DRB1\*14 был альтернативной аллельной группой для DRB\*13, возможностями особых аллелей являлись DRB1\*1417 или DRB1\*1430. Оба аллеля считаются редкими. DRB1\*1417 впервые был обнаружен у трёх канадских французов и DRB1\*1430 был добавлен в классификацию совсем недавно и до сих пор не упоминался в публикациях.

Один антиген был несоответствующим для DRB1\*13/\*15 в 8/64 (12,5%) образцах, где встречался либо DRB1\*13, либо DRB1\*15. Эти вызывающие несоответствие аллели программное обеспечение LiPA-Expert определило следующим образом: DRB1\*0304 х \*1309 (восемь образцов).

В каждом из восьми случаев, где DRB1\*13 давался как альтернативная аллельная группа DRB1\*15, специфическим аллелем был DRB1\*1309, с ассоциированным аллелем DRB5\*01011. Это сочетание возможно только теоретически и никогда не описывалось. Оно включено в LiPA-Expert для полноты. В дополнение, каждый из описанных случаев связан с аллелем DRB1\*0304, который характеризуется как имеющий низкую частотность.



**Воспроизводимость**

Повторное типирование между разными партиями INNO-LiPA HLA-DRB decoder с использованием ДНК, полученной из клинических образцов в ходе исследования, дало воспроизводимый результат реакционной способности зондов в каждом случае.

**Точность**

В ходе внешней оценки INNO-LiPA HLA-DRB decoder показал полное соответствие эталонным методам.

**Статистика по образцам**

|         |                                                                                                                                                      |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 136     | Общее количество попыток амплификации (без ошибок)                                                                                                   |
| 106     | Общее количество результатов, полученных после общей амплификации (DRB1+3+4+5 – результаты из одного центра не были переданы координатору испытаний) |
| 136     | Общее количество результатов, полученных после всех специфических амплификаций                                                                       |
| 82/106  | Общее количество однозначного типирования аллельных групп после общей амплификации (DRB1+3+4+5)                                                      |
| 122/136 | Общее количество результатов однозначного типирования аллельных групп после специфических амплификаций (DRB1, 86V, 86G)                              |
| 14/136  | Количество результатов типирования аллельных групп с несоответствиями после всех специфических амплификаций (объяснение даётся в тексте)             |
| 37/136  | Общее количество однозначных результатов аллельного типирования (самое высокое разрешение) после всех этапов амплификации                            |
| 71/136  | Общее количество результатов без несоответствий для локуса DRB1 после всех этапов амплификации (в локусах DRB3, DRB4, DRB5 остаются несоответствия)  |
| 121/136 | Количество образцов, сравнивавшихся с INNO-LiPA DRB decoder (используется для измерения степени соответствия)                                        |
| 15/136  | Количество тестируемых PCR-SSP образцов (также используется для измерения степени соответствия)                                                      |

**Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.

## INNO-LiPA HLA-DRB decoder Amplification



### Производство:

Fujirebio Europe N.V. Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

### Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

Fujirebio Italia S.r.l.  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Для получения информации на других языках посетите сайт:



[www.e-labeling.eu/FRI84371](http://www.e-labeling.eu/FRI84371)

### **+800 135 79 135**

00800 161 2205 7799  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5692  
0800 0100 567

### **ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

### **+31 20 794 7071**

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

Необъединенная Европа  
США +1 855 236 0910  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая  
Зеландия, Россия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн | Вт | Ср | Чт | Пт | Сб | Вс |
|----|----|----|----|----|----|----|
| ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☐  | ☐  |

© Fujirebio Europe N.V.

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                       |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                            | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                    | 2                                      |
| Принцип проведения теста .....                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....             | 4                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....          | 4                                      |
| Сбор, подготовка и хранение образцов .....                            | 4                                      |
| Выделение ДНК .....                                                   | 4                                      |
| Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) .....          | 4                                      |
| Цикличность ПЦР .....                                                 | 5                                      |
| Примечания и меры предосторожности .....                              | 5                                      |
| Процедура проведения теста .....                                      | 5                                      |
| Результаты .....                                                      | 6                                      |
| Визуализация .....                                                    | 6                                      |
| Проверка достоверности .....                                          | 6                                      |
| Ограничения процедуры .....                                           | 6                                      |
| Эффективность анализа .....                                           | 7                                      |
| Диапазон применения .....                                             | 7                                      |
| Товарные знаки .....                                                  | 7                                      |

**Используемые символы**

Производитель

IVD

Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях

LOT

Код партии

REF

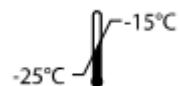
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры

AMP KIT

Набор для амплификации

AMPL BUF

Буферный раствор для амплификации

LiPA Taq

LiPA Taq

Раствор праймера 86G

PRIMER SOLN 86G

Раствор праймера 86V

PRIMER SOLN 86V

Раствор праймера DRB1

PRIMER SOLN DRB1

PRIMER SOLN DRB1/3/4/5

Раствор праймера DRB1/3/4/5

## Предполагаемое использование

Набор «INNO-LiPA HLA-DRB decoder» для использования *в лабораторных условиях* предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты второго экзона локуса DRB1, DRB3, DRB4 и DRB5 лейкоцитарного антигена человека (HLA).

Реакция происходит посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## Принцип проведения теста

Образец ДНК, предназначенный для амплификации с помощью ПЦР, помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTPs), биотинилированные праймеры, а также термостабильную ДНК-полимеразу. Праймеры будут амплифицировать экзон 2 всех или определенных аллелей DRB (см. Ниже).

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, чтобы подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры комплементарны областям, фланкирующим последовательность-цель. После охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг). При другой заданной температуре термостабильная ДНК-полимераза будет использовать избыточные dNTPs, чтобы достроить отождённые праймеры вдоль целевой матрицы (достройка). Таким образом, две точные биотинилированные копии целевой последовательности воспроизводятся после одного цикла денатурации, отжига и удлинения. После 35 циклов образуется огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- При условии хранения при температуре от -15 до -25°C в открытом или закрытом виде, в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить реагенты аликвотами (кроме LiPA-Taq) после первого использования и затем хранить при температуре от -15 до -25°C (допускается 4 цикла замораживания / оттаивания). Не используйте реагенты после истечения срока годности набора.
- Реагенты следует хранить вдали от источников загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.
- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                  | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------|---------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 4 x 0,3 мл    | 56722        | Содержит все dNTPs и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания перед использованием.                                                                                                                                                                                                          |
| Раствор праймера DRB1/3/4/5       | 1 x 0,3 мл    | 56989        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта для амплификации экзона 2 аллелей DRB1 / 3/4/5.. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился.                                                                           |
| Раствор праймера 86G              | 1 x 0,3 мл    | 56988        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта для специфичной последовательности амплификации экзона 2 аллелей DRB, показывающих последовательность G или D в кодоне 86. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился. |
| Раствор праймера 86V              | 1 x 0,3 мл    | 56987        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта для специфичной последовательности амплификации экзона 2 аллелей DRB, показывающих последовательность V в кодоне 86. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился.       |
| Раствор праймера 86DRB1           | 1 x 0,3 мл    | 56984        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта для специфичной последовательности амплификации экзона 2 аллелей DRB1. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился.                                                     |
| LiPA-Taq                          | 2 x 0,035 мл  | 60694        | Содержит ДНК-полимеразу Taq (3 ед./мкл) и 0,03% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием хранить при температуре от -15 до -25°C.                                                                                                                                                                          |

#### **Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы**

- Материалы для выделения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов (желательно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Автоклавированная дистиллированная вода
- Минеральное масло (по запросу).

#### **Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к **Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).**  
**EUN210 Паспорт безопасности предоставляется по запросу.**
- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

#### **Сбор, подготовка и хранение образцов**

##### ***Выделение ДНК***

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Образцы ДНК следует хранить при температуре от -15 до -25°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию  $\geq 0,02$  мкг/мкл. Чистота ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ ) должна составлять  $\geq 1,5$ .**

##### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Реагенты не поставляются.

##### ***Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)***

Все компоненты следует добавлять в правильном количестве. Чрезмерное или недостаточное количество образца или реагентов может привести к аспецифической амплификации или к тому, что амплификация вообще не произойдет.

### **Цикличность ПЦР**

Следует выбрать правильный температурный профиль для «INNO-LiPA HLA-DRB decoder».

### **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты должны быть изолированы от любого источника загрязняющей ДНК, особенно от продуктов амплификации ДНК. Также избегайте микробного загрязнения реагентов.
- Избегайте обратного перемещения материалов из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.
- Все наконечники дозаторов и пробирки, которые используются в процессе амплификации, должны быть стерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозаторов с ватными пробками. Для каждого поделённого на аликвоты образца следует использовать новый стерильный наконечник дозатора.
- Не смешивать реагенты из разных наборов, если только компоненты не имеют идентичных номеров партий.
- После разморозки смешайте в вортекс-миксере Буферный раствор для амплификации и Раствор праймера и осадите путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA-Taq.

### **Процедура проведения теста**

- Данный протокол для амплификации экзона 2 аллелей DRB предназначен для оптимальной амплификации с использованием пробирок для ПЦР GeneAmp (объемом 0,5 мл) и термоциклеров PE-480 или пробирок для ПЦР MicroAmp (объемом 0,2 мл) и термоциклеров GeneAmp ПЦР-системы 9700 и LiPA. -Taq. Данный протокол может использоваться для большинства коммерческих термоциклеров, однако может потребовать некоторых изменений, указанных производителем термоциклера.
  - Перед использованием следует определить, совместим ли протокол с термоциклером, который используется в Вашей лаборатории. Перед использованием термоциклер должен быть обязательно откалиброван.
  - Следует принять необходимые меры предосторожности во избежание неспецифичной амплификации и формирования димеров праймера, что может негативно повлиять на результаты:
    - Выполните пипетирование на льду без задержки.
    - Предварительно нагрейте (до 95°C) нагревательный блок термоциклера перед тем, как поместить в него образцы, после чего немедленно начните процесс выполнения цикла.
1. Разбавьте каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 0,04 мкг/мкл в буферном растворе трис-ЭДТК.
  2. Определите количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:  
N = количество образцов ДНК + 1 (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1  
При помощи наконечников дозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовьте основной раствор в стерилизованной в автоклаве пробирке объёмом 1,5 мл:

Для амплификации DRB1+3+4+5 и 86V

(N x 24,5 мкл) автоклавированная дистиллированная вода  
+ (N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации  
+ (N x 10 мкл) раствор праймера DRB1/3/4/5 или 86V  
+ (N x 0,5 мкл) LiPA-Taq (N x 1,5 ед.)

Для амплификации DRB1 и 86G

(N x 24 мкл) автоклавированная дистиллированная вода  
+ (N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации  
+ (N x 10 мкл) раствор праймера DRB1 или 86G  
+ (N x 1 мкл) LiPA-Taq (N x 3 ед.)

Общий объем амплификационного раствора теперь составляет (N x 45 мкл).

Быстро перемешайте на вортексе и распределите аликвотами 45 мкл этой исходной смеси (мастер-микс) в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

3. При необходимости добавьте 2 капли (~ 40 мкл) минерального масла в каждую пробирку (например, при использовании PE-480). Внесите 5 мкл (0,1–0,2 мкг) препарата геномной ДНК (при необходимости через минеральное масло). Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не перемешивайте на вортексе и не смешивайте.
- Проверьте, чтобы смесь для амплификации находилась на дне пробирки.

4. Поместите образцы в **предварительно нагретый и откалиброванный нагревательный блок** (см. инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, предназначенную для амплификации DRB decoder.

| Протокол амплификации DRB decoder |                     |                         |         |         |                            |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------------|---------|---------|----------------------------|
| Тип циклера                       |                     | PE-480                  | PE-2400 | PE-9600 |                            |
| Этап                              |                     | Температура<br>± 0,75°C | Время   | Время   |                            |
| 1                                 | денатурация         | 95°C                    | 5 мин   | 5 мин   |                            |
| 2                                 | денатурация         | 95°C                    | 30 сек. | 20 сек. | 35 раз повторить этапы 2-4 |
| 3                                 | отжиг праймеров     | 58°C                    | 20 сек. | 20 сек. |                            |
| 4                                 | достройка праймеров | 72°C                    | 30 сек. | 20 сек. |                            |
| 5                                 | удлинение           | 72°C                    | 10 мин  | 10 мин  |                            |

ПРИМЕЧАНИЕ: Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса II INNO-LiPA HLA кроме INNO-LiPA HLA-DPB

5. После процесса амплификации сразу же используйте образцы с полосой INNO-LiPA HLA-DRB decoder или храните образцы при температуре от -15 до -25°C.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не храните амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты****Визуализация**

- Присутствие ампликонов может быть проверено 2% агарозным гелем. В каждый слот поместите 10 мкл амплифицированного продукта. После амплификации появится ампликон в виде одной полосы размером 280 пар оснований.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Раствор праймера DRB1 – это набора праймеров, который может привести к образованию праймер-димеров. Они не повлияют на результаты теста.
- Наблюдения внутри компании показывают, что если видна полоса длиной ~ 280 пар оснований после проверки 10 мкл амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат следует получить с помощью анализа LiPA.

**Проверка достоверности**

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении реакции амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует учитывать включение дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

**Ограничения процедуры**

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может быть причиной полностью неудавшегося анализа.

- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторная заморозка/разморозка образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Вследствие aberrантной последовательности аллеля DRB1\*1130 в позиции праймера DRB1, для данного аллеля амплификация с набором праймеров DRB1 не ожидается.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке праймера считается слишком низким, так как ошибка праймера еще никогда не наблюдалась и было протестировано более 80 аллелей, охватывающих все группы. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведенных процедур обеспечивают специфическую амплификацию.

### **Эффективность анализа**

Оценка «INNO-LiPA HLA-DRB decoder» проводилась в трех европейских и двух американских лабораториях типирования тканей с использованием обычных образцов для типирования. В ходе исследования с использованием «INNO-LiPA HLA-DRB1» всего было проанализировано 136 образца. В ходе исследования ошибок амплификации «INNO-LiPA HLA-DRB decoder» не было.

### **Диапазон применения**

Приобретение этого продукта позволяет покупателю использовать его для амплификации последовательностей нуклеиновых кислот для диагностики человека в лабораторных условиях в соответствии с запатентованным методом, описанным во вкладыше к упаковке. Настоящим не предоставляется никаких общих патентов или других лицензий любого рода, кроме этого конкретного права использования с момента покупки.

### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными товарными знаками Applied Biosystems, LLC.



(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FRI56767**  
80342 INNO-LiPA HLA-C  
28787 v7  
2020-01-28  
стр. 1/15  
Английский

INNO-LiPA HLA-C



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел.: +32 9 329 13 29  
Факс.: +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел.: +49 511 857 39 31  
факс.: +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел.: +33 1 69 07 48 34  
факс.: +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI91221](http://www.e-labeling.eu/FRI91221)

**Европа +800 135 79 135**

ГР 00800 161 220 577 99

ИС 800 8996

ЛТ 880 030 728

РУ 0800 895 084

СК 0800 606 287

ТР 0800 142 064 866

ЛИ +31 20 796 5692

МТ +31 20 796 5693

ИИ 0800 0100567

Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910

КА +1 855 805 8539

АР, БР, КО, УР, +800 135 79 135

АВ, НЗ, РФ

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)

Тел.: +39 06 965 28 700

Факс.: +32 06 965 28 765

Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)

Тел.: +34 93 270 53 00

Факс.: +34 93 270 53 02

spain@fujirebio-europe.com

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

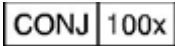
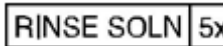
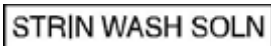
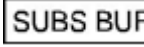
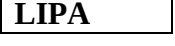
| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                               | 3  |
| Предусмотренное применение .....                                            | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                           | 3  |
| Реагенты .....                                                              | 4  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 4  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                             | 6  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                       | 7  |
| Образцы.....                                                                | 8  |
| Процедура работы.....                                                       | 8  |
| Работа с полосками .....                                                    | 8  |
| Указания по ручной инкубации .....                                          | 9  |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках.....                           | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                      | 10 |
| Процедура анализа ручным методом.....                                       | 10 |
| Образцы .....                                                               | 10 |
| Денатурация и гибридизация.....                                             | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                       | 11 |
| Проявление цвета .....                                                      | 12 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> .....                   | 12 |
| Результаты.....                                                             | 13 |
| Считывание.....                                                             | 13 |
| Подтверждение.....                                                          | 13 |
| Интерпретация результатов .....                                             | 14 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....               | 14 |
| Ограничения процедуры.....                                                  | 14 |
| Проведение анализа .....                                                    | 15 |
| Проведение .....                                                            | 15 |
| Реакционная способность зонда .....                                         | 15 |
| Разрешение (таблица типирования K1073/1999-01-01) .....                     | 15 |
| Воспроизводимость.....                                                      | 15 |
| Конкордантность.....                                                        | 15 |
| Торговые знаки .....                                                        | 15 |

**Используемые обозначения**

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Производитель                                                           |
|    | Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)  |
|    | Код партии                                                              |
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|    | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|    | Конъюгат 100x                                                           |
|   | Конъюгат разбавитель                                                    |
|  | Раствор для денатурирования                                             |
|  | Раствор для гибридизации                                                |
|  | Раствор для промывания 5x                                               |
|  | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски                                                                 |
|  | Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

**Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-C – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения in vitro (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) аллелей C.

**Принцип проведения испытания**

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде

параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-C для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-C Amplification). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 1 типизирующей полосы, на которой находятся 28 последовательно-специфических зондов и 2 контрольных линии (Рисунок 1, См. Результаты).

### **INNO-LiPA HLA-C: шаги**

Шаг 1 Амплификация экзонов 2 и 3 локуса HLA-C.

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 28 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-C.

Шаг 3 Проявление цвета.

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда.

INNO-LiPA HLA-C разработан с целью дать лучшее разрешение, используя метод обратной гибридизации на уровне аллельной группы (это отображается в двух первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA). Разрешение на аллельном уровне (обозначение четырёх первых символов после звёздочки в названии аллеля) возможно для определённых аллельных комбинаций.

### **Реагенты**

#### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все не вскрытые и хранящиеся в исходных пробирках при температуре 2-8°C реагенты для анализа остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты с истёкшим сроком годности.
- Набор необходимо хранить вдали от любого источника заражённого ДНК, особенно амплифицированных ДНК продуктов.
- Все реагенты необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

## Предоставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                                                        | <b>Количество</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                                                                 | 1 x 20            | 57032        | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-C Plus с оранжевой полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Раствор для денатурации                                                 | 1 x 1 мл          | 56718        | Щелочной раствор с содержанием этилендиамина тетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Раствор для гибридизации                                                | 1 x 80 мл         | 56719        | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Раствор для жёсткой промывки                                            | 1 x 200 мл        | 56720        | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Конъюгат разбавитель                                                    | 1 x 80 мл         | 56951        | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                                           | 1 x 0,8 мл        | 60685        | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Субстратный буфер                                                       | 1 x 180мл         | 56953        | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 0,8 мл        | 56954        | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                           |           |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------|-----------|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Раствор для промывания 5х | 1 x 80 мл | 56721 | <p>субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте.</p> <p>Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% МПТ/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизированной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.</p> |
| Планшет для инкубации     | 3         |       | <p>Для идентификации положительных зондов.</p> <p>Для хранения отработанных полосок.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Считывающая карта         | 1         |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Листок учёта данных       | 2         |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

### Не предоставляемые необходимые материалы:

- INNO-LiPA HLA-C Amplification.
- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56 °C +/- 0,5 °C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

### Рекомендации

#### *Для орбитального шейкера:*

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

#### *Для возвратно-поступательного шейкера:*

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

#### *Для колебательного шейкера с платформой:*

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.

- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа ( $\pm 1$  минута).

### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий. Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P333+P313 P302+P352 P363



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолий дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х  
H312 H319 H332 H360D  
P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

#### Краткая характеристика опасностей

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

#### Меры предосторожности

|                |                                                                                                               |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                                                              |
| P260           | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                                                              |
| P261           | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                                                    |
| P280           | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.                                  |
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                      |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой в душе. |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать                                                              |

- водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание.
- P308+P313 Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.
- P310 Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.
- P333+P313 При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.
- P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.
- P363 Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.
- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.
- Прозеинфицировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
  - Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
  - Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия. Перед уничтожением дать постоять ночь.
- ВНИМАНИЕ: перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.
- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

## Образцы

Так как анализ INNO-LiPA HLA-C использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации INNO-LiPA HLA-C Amplification.

## Процедура работы

### *Работа с полосками*

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте карандаш для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.



- До интерпретации, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.
- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25°C.
- Не используйте повторно лунки.

#### **Указания по ручной инкубации**

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-отрицательных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани во время инкубации, чтобы избежать ложно-положительных сигналов.
- **Не используйте шейкер с горячим воздухом** для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для окрашивания должны проходить при температуре между 20 и 25°C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее, следует не допускать проливания жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперёд таким образом, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунки.
- Не накрывайте планшеты. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

**Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательна присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетечь в один конец лунки.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения анализа.

Заметка:

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Удаляйте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате её полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

**Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждого образца аликвоты.
- Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

**Процедура анализа ручным методом**

Заметка:

- В течение разных этапов инкубации индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

**Образцы**

1. Амплифицированный HLA-C продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-C Amplification.

Примечание:

- Убедитесь, что добавили именно 10 мкг амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к неправильным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль; используйте 10 мкл).

### ***Денатурация и гибридизация***

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество Полосок INNO-LiPA HLA-C из колбы (по одной полоске для тестового образца). Внесите полоску в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше зелёной линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.

Примечание: Закройте пробирку немедленно после использования.

5. Добавьте 10 мкл образца и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять 5 минут при температуре  $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ .
6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл в денатурированный амплифицированный продукт в каждой лунке. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте заражения соседних лунок во время работы с пипеткой.
7. Немедленно положите полоску в лунку вверх отмеченной стороной мембраны. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

Примечание: Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет

8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.

Примечание: Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между  $1/3$  и  $1/2$  высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации, достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательной присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, промойте: потрясите недолго планшет (10-20 секунд) при температуре  $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ . Удалите раствор из каждой

лунки. Повторите этот этап быстрой промывки один раз (см. также Указания по ручной замене жидкостей в лунках).

3. В конце удалите раствор и в течение 10 минут инкубируйте каждую полоску в 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в водяной бане с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Закройте крышку.

**До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

Примечание: В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания и конъюгат. См. Реагенты.

### ***Проявление цвета***

Последующая инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации, жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Дважды по 1 минуте промойте каждую полоску, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Реагенты и Указания по ручной замене жидкости в лунках)
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора (см. Реагенты) в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

Примечание: Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.

3. Промойте каждую полоску дважды по 1 минуте с использованием 2мл рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора (см. Реагенты) в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.
5. Остановите проявление цвета, дважды промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.
6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до считывания результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### **Процедура автоматического анализа: Auto-LiPA**

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, Auto-LiPA была разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. Auto-LiPA характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. За более подробной информацией и специфическими условиями использования Auto-LiPA, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

## Результаты

### Считывание

Рисунок 1 показывает расположение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-C. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.

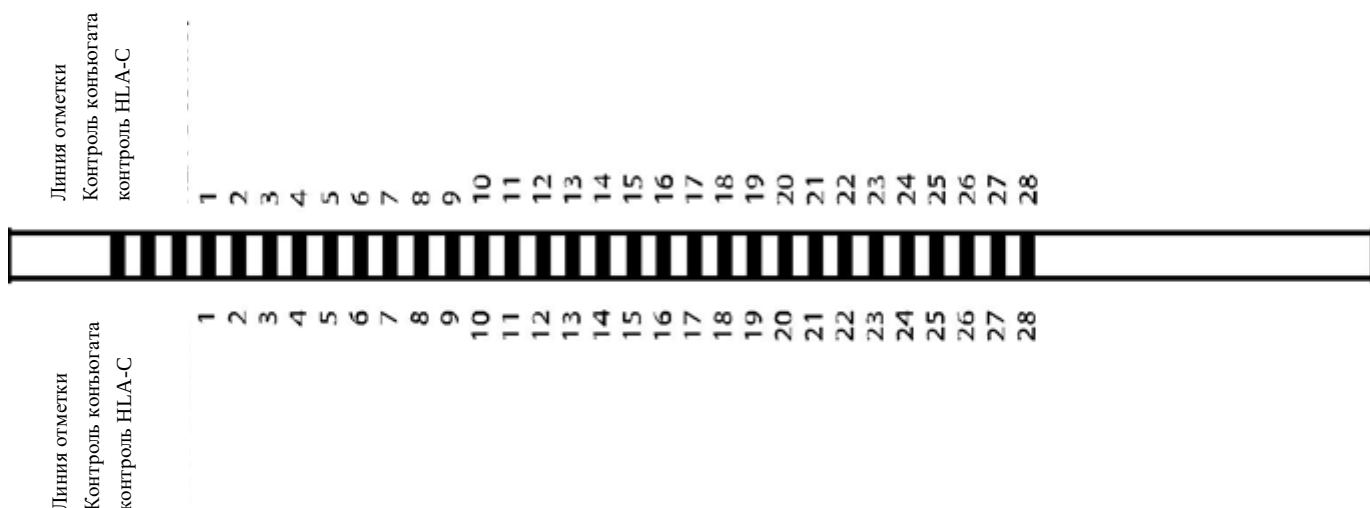


*Рисунок 1: расположение линии отметки (оранжевая линия), контрольная линия конъюгата, контрольная линия HLA-C и 28 последовательно-специфических ДНК зондов на полосках INNO-LiPA HLA-C.*

### Подтверждение

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль.  
Как и с любой новой процедурой анализа, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самая верхняя линия на полоске INNO-LiPA HLA-C является линией отметки (оранжевая). Эта линия позволяет правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске в ходе одной серии опытов.
- Следующая линия – линия положительного контроля HLA-C (контроль HLA-C на считывающей карте), обозначающая, достаточное ли количество HLA-C амплифицированного материала было добавлено для гибридизации. Эта линия также является контрольной для условий гибридизации. Эта линия всегда должна быть положительной, за исключением негативных контролей, но её яркость может отличаться от одного образца к другому.

- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

### **Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первые две линии).
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-C и определите тип HLA-C путём ввода данных в версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.

### **Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Пожалуйста, для получения последней обновлённой версии обратитесь в местному распространителю.

### **Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- Полоски INNO-LiPA HLA-C предусмотрены для резолуции на уровне аллельных групп (Cw\*01 до Cw\*18). Благодаря использованию не менее 28 последовательно-специфических зондов, промежуточное разрешение на аллельном уровне также может быть получено. Однако, сочетание двух аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и следовательно к неоднозначному ответу двух или более возможных сочетаний аллелей.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что у новых аллелей могут иметься мутации, не выявленные выбранными зондами.
- Новый аллель может привести к новому сочетанию зондов, что в свою очередь может привести к результату, который невозможно интерпретировать.
- Особенность контрольной линии HLA-C кодонов 54 и 55 – GAC AC. Эта последовательность также характерна для некоторых аллелей HLA-A и HLA-B. Следовательно контрольная линия HLA-C реагирует на амплифицированный продукт HLA-C и некоторые амплифицированные продукты HLA-A и HLA-B.

**Проведение анализа**

Проведение анализа с помощью INNO-LiPA HLA-C оценивалось в семи европейских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования.

**Проведение**

В ходе исследования с помощью LiPA HLA-C всего было проанализировано 269 образцов. Все образцы дали удовлетворительный продукт амплификации в ходе исследования. Образцы обрабатывались с помощью инструментов Auto-LiPA. Результаты сравнивались с принятыми техниками типирования, основанными на ДНК (PCR SSP и PCR SSOP).

**Реакционная способность зонда**

Всего в ходе исследования было выявлено две ложно-отрицательные и четыре ложно-положительные реакции. С использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS все они были идентифицированы, и конкордантное типирование было произведено. Для получения более подробной информации о реакционной способности зонда обратитесь к руководству.

Доступен полный список характеристик зондов и праймера.

**Разрешение (таблица типирования K1073/1999-01-01)**

INNO-LiPA HLA-C разработан с целью разрешения аллелей локуса HLA-C на уровне аллельных групп.

В данном исследовании наблюдалось 95,5% (257/269) разрешение на уровне аллельных групп.

12 неоднозначных результатов:

девять Cw\*0707/0709 x Cw\*0802/0804 или Cw\*0701/0706 x Cw\*0501/0502,  
один Cw\*0707/0709 x Cw\*16041 или Cw\*0701/0706 x Cw\*1205,  
один Cw\*1601 x Cw\*1801 или Cw\*0708 x Cw\*1205  
и один Cw\*12041/12042 x Cw\*0802/0804 или Cw\*1203/1206 x Cw\*0501/0502.

**Воспроизводимость**

Повторное типирование между двумя партиями LiPA HLA-C с использованием ДНК, полученной из клинических образцов в ходе исследования, привело к воспроизводимым результатам типирования с одним исключением. Когда образец анализировался повторно, у обеих партий был получен одинаковый правильный результат типирования.

**Конкордантность**

Всего 269 образцов были типированы с помощью альтернативных анализов ДНК для HLA-C и показали 100% (269/269) соотношение с LiPA HLA-C.

**Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.

## INNO-LiPA HLA-C Amplification



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

**Европа +800 135 79 135**

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

**Не-Европа +31 20 794 7071**

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |



## Содержание

|                                                                             |   |
|-----------------------------------------------------------------------------|---|
| Используемые символы .....                                                  | 2 |
| Предполагаемое использование .....                                          | 2 |
| Принцип проведения теста .....                                              | 3 |
| Реагенты.....                                                               | 3 |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 3 |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                   | 3 |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                | 4 |
| Образец (подготовка и хранение).....                                        | 4 |
| Выделение ДНК .....                                                         | 4 |
| Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) .....                | 4 |
| Цикличность ПЦР .....                                                       | 5 |
| Примечания и меры предосторожности .....                                    | 5 |
| Процедура проведения теста .....                                            | 5 |
| Результаты .....                                                            | 7 |
| Визуализация .....                                                          | 7 |
| Проверка достоверности .....                                                | 7 |
| Ограничения процедуры .....                                                 | 7 |
| Выполнение теста .....                                                      | 7 |
| Товарные знаки .....                                                        | 7 |

## Используемые символы



Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Набор для амплификации



Буферный раствор для амплификации



LiPA Taq



Раствор праймера

## Предполагаемое использование

Набор «INNO-LiPA HLA-C Amplification», для использования в лабораторных условиях, предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты второго и третьего экзонов лейкоцитарного антигена человека (HLA) locus C. Реакция осуществляется посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## Принцип проведения теста

Образец ДНК, который должен быть амплифицирован посредством ПЦР, вводится в смесь реагентов, состоящую из избытка дезоксинуклеозид 5'-трифосфатов (dNTPs), биотинилированных праймеров и термостабильной ДНК-полимеразы. Праймеры будут амплифицировать экзон 2 и экзон 3 HLA-локус C, и поэтому называются «праймерами HLA-C». Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, что подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры комплементарны участкам, фланкирующим целевую последовательность. Таким образом, после охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг).

При другой температуре, а также используя dNTPs, термостабильная ДНК-полимераза будет достраивать отождествленные праймеры вдоль целевой матрицы (достройка). Таким образом, две точные биотинилированные копии матрицы последовательности воспроизводятся после одного цикла денатурации, отжига и достройки. После 35 циклов образуется мульти-амплифицированная биотинилированная целевая последовательность.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- При поддержании температуры в диапазоне от -15 до -25°C и хранении в оригинальных флаконах, реагенты обладают стабильностью до даты истечения срока годности набора.
- Тем не менее, рекомендуется распределить аликвотами реагенты после первого применения (за исключением LiPA-Taq) и затем хранить их при температуре от -15 до -25°C. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Все реагенты следует довести до комнатной температуры (20-25°C) приблизительно за 60 минут до использования и положить обратно в холодильник сразу после использования.
- Реагенты следует хранить отдельно от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных продуктов.
- Изменения внешнего вида реагентов, входящих в набор, может указывать на нестабильность или ухудшение их свойств.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                  | <b>Количество</b> | <b>Ссылка</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                          |
|-----------------------------------|-------------------|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл        | 56722         | Содержит все дезоксинуклеозид 5'-трифосфаты (dNTPs) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.                                     |
| Раствор праймера                  | 1 x 0,3 мл        | 57028         | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> , диметилсульфоксид (DMSO) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.       |
| LiPA-Taq                          | 1 x 0,035 мл      | 700093        | Содержит ДНК-полимеразу «горячего старта» (2ед./мкл) в качестве консерванта. Хранить от -15 до -25°C до непосредственного использования. |

### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК
- Одноразовые перчатки
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов (желательно закрытые ватной пробкой)
- Стерильные микропробирки
- Держатели для микропробирок
- Центрифуга с микропробирками
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Минеральное масло, силиконовая смазка (если требуется).
- Автоклавированная дистиллированная вода

**Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com)

**Предупреждение**

Праймер раствор

H315-H319

P280-P305 + P351 + P338-P332 + P313-P337 + P313-P302 + P352-P362+P364

*Формулировки опасности*

H315 Вызывает раздражение кожи.

H319 Вызывает серьезное раздражение глаз.

*Предупредительные заявления*

P280 Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица

P302 + P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды и мыла.

P305 + P351 + P338 При попадании в глаза: осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они присутствуют. Продолжать ополаскивания.

P332 + P313 При возникновении раздражения кожи: Обратиться за медицинской помощью / консультацией.

P337 + P313 Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу .

P362 + P364 Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.

- Только надлежащим образом обученный персонал должен быть разрешен для проведения процедуры.

- С образцами всегда следует обращаться как с потенциальными возбудителями инфекции.

- Необходимо использование средств защиты: перчатки и защитные очки при обращении с опасными или инфекционными агентами

- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

**Образец (подготовка и хранение)****ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Реагенты не поставляются.

**Выделение ДНК**

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), или с помощью этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Хранить образцы ДНК при температуре от -15 до -25°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию  $\geq 0,02$  мкг/мкл.**

**Степень чистоты ( $A_{260_{nm}}/A_{280_{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1,5$ .**

**Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)**

Каждый компонент должен добавляться и поставляться в надлежащем количестве. Слишком большой или слишком маленький объем образца или реагентов может привести к неспецифической амплификации или даже к полному отсутствию амплификации.

### Цикличность ПЦР

Следует выбирать правильный температурный профиль для набора «INNO-LiPA HLA-C Amplification».

### Примечания и меры предосторожности

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты должны находиться отдельно от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных продуктов. Кроме того, следует избегать микробного загрязнения реагентов.
- Избегать любого возвращения из помещения для после амплификации в помещение до амплификации.
- Все наконечники для дозаторов и пробирки, использованные для процесса амплификации должны быть простерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники для дозаторов закрытые ватной пробкой. Используйте новый стерильный наконечник дозатора для каждого образца, разделенного на аликвоты.
- Обращаться с реагентами, используемыми для процессов амплификации, следует в помещении, не содержащем амплифицированную ДНК. Следует использовать стерилизованные в автоклаве пробирки и микродозаторы (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- После оттаивания, перемешать на вортексе Буферный раствор для амплификации и Раствор праймера, и осадить путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA Taq.

### Процедура проведения теста

#### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Данный протокол по амплификации с экзона 2 до экзона 3 аллелей HLA-C был разработан с целью выполнения оптимальной амплификации, используя пробирки для ПЦР GeneAmp® (объёмом 0,5 мл) и термоциклеры PE-9700, или пробирки для ПЦР MicroAmp® (объёмом 0,2 мл) и термоциклеры ПЦР-системы 9700 GeneAmp®, а также LiPA-Taq.
  - Настоящий протокол можно использовать для большинства термоциклеров промышленного типа, но он может потребовать некоторых изменений, указанных изготовителем термоциклера.
  - Перед использованием определить, согласуется ли протокол с термоциклером, используемым в Вашей лаборатории. **Следите за тем, чтобы термоциклер был откалиброван перед использованием.**
  - Примите необходимые меры предосторожности для того, чтобы избежать неспецифической амплификации и образования праймер-димеров, что может ухудшить результаты:
    - Выполнить **успешно и без задержек** шаги по отмериванию пипеткой.
    - Предварительно нагреть (**до 96°C**) нагревательный блок термоциклера перед тем, как вставить образцы, и незамедлительно приступить к процессу выполнения цикла.
    - Храните LiPA-Taq при температуре от -15 до -25°C непосредственно перед использованием.
1. Разбавить каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 0,25 мкг/мкл в буферном растворе трис-EDTA.
  2. Определить количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:  
N = количество образцов ДНК + 1 (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1  
С помощью микродозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовить исходную смесь (мастер-микс) в стерилизованной в автоклаве пробирке объёмом 1,5 мл:

- (N x 23,75 мкл) автоклавированная дистиллированная вода.
- + (N x 10 мкл) Буферный раствор для амплификации
- + (N x 10 мкл) Раствор праймера HLA-C
- + (N x 1,25 мкл) LiPA-Taq (N x 2,5 ед.)

Общий объем этой смеси для амплификации теперь будет составлять (N x 45 мкл).

Быстро перемешать на вортексе и распределить аликвотами 45 мкл этой исходной смеси в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

3. Добавить 2 капли (~ 40 мкл) минерального масла в каждую пробирку в случае необходимости (например при использовании PE-480). Отмерить дозатором 5 мкл (0,10 - 1,25 мкл) препарата геномной ДНК (используя минеральное масло, при необходимости). Добавить 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не перемешивать на вортексе и не смешивать!
  - Убедитесь, что смесь для амплификации находится в нижней части пробирки!
4. Поместить образцы в **предварительно нагретый и откалиброванный термоблок** (см. инструкции, предписанные изготовителем термоциклера). Запустить программу амплификации, предназначенную для амплификации HLA-C.

Профиль амплификации HLA-C (термоциклер типа: PE-480, PE-2400, PE-9600): PE-480, PE-2400, PE-9600):

| Этап |                     | Температура<br>± 0,75°C | Время   |                                     |
|------|---------------------|-------------------------|---------|-------------------------------------|
| 1    | активация           | 95°C                    | 10 мин  |                                     |
| 2    | денатурация         | 96°C                    | 5 мин   |                                     |
| 3    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла 3-5,          |
| 4    | отжиг праймеров     | 64°C                    | 50 сек. |                                     |
| 5    | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                     |
| 6    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла 6-8, 5 раз    |
| 7    | отжиг праймеров     | 62°C                    | 50 сек. |                                     |
| 8    | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                     |
| 9    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла 9-11, 10 раз  |
| 10   | отжиг праймеров     | 60°C                    | 50 сек. |                                     |
| 11   | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                     |
| 12   | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла 12-14, 15 раз |
| 13   | отжиг праймеров     | 55°C                    | 50 сек. |                                     |
| 14   | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                     |
| 15   | Удлинение           | 72°C                    | 10 мин. |                                     |
| 16   | удержание           | 4°C                     |         |                                     |

ПРИМЕЧАНИЕ:

- Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса I INNO-LiPA HLA.
5. По завершении процесса амплификации сразу использовать образцы с индикаторными полосами «INNO-LiPA HLA-C» или хранить образцы при температуре от -15 до -25°C.

ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не хранить амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

## Результаты Визуализация

- Наличие амплифицированного продукта можно проверить в 2% агарозном геле. Наполнить каждое гнездо по 10 мкл амплифицированного продукта. Ампликон должен появиться в виде одной полосы длиной 904 пар оснований.
- Внутренние наблюдения показывают, что если видна полоса длиной 904 пар оснований после проверки 10 мкл разбавленного в соотношении 1/10 амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат следует получить с помощью анализа LiPA.

## Проверка достоверности

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует учитывать включение дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

## Ограничения процедуры

- Использование этого изделия должно ограничиваться только персоналом, хорошо обученным в области методов амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может стать причиной полностью неудавшегося анализа!
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторное замораживание/оттаивание образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке связывания с праймером считается очень низким, поскольку никогда не наблюдался неудовлетворительный результат праймера, и было протестировано значительное количество аллелей по всем группам. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведённых процедур обеспечивают специфическую амплификацию.

## Выполнение теста

Оценка набора «LiPA HLA-C» была проведена в семи европейских лабораториях по типированию тканей на образцах стандартного типирования.

Во время исследования всего было протестировано 269 образцов с помощью LiPA HLA-C. Все образцы были успешно амплифицированы.

## Товарные знаки

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными торговыми знаками компании «Applied Biosystems, LLC».

(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FR84940**  
80344 INNO-LiPA HLA-DPB  
28795 v4  
2020-01-28  
стр. 1/12  
Английский

INNO-LiPA HLA-DPB



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел.: +32 9 329 13 29  
Факс.: +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел.: +49 511 857 39 31  
факс.: +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел.: +33 1 69 07 48 34  
факс.: +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI91221](http://www.e-labeling.eu/FRI91221)

**Европа +800 135 79 135**

ГР 00800 161 220 577 99

ИС 800 8996

ЛТ 880 030 728

РУ 0800 895 084

СК 0800 606 287

ТР 0800 142 064 866

ЛИ +31 20 796 5692

МТ +31 20 796 5693

ИИ 0800 0100567

Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910

КА +1 855 805 8539

АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135

АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                               | 2  |
| Предусмотренное применение .....                                            | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                           | 3  |
| Реагенты .....                                                              | 4  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 4  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                             | 6  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                       | 6  |
| Образцы.....                                                                | 8  |
| Процедура работы.....                                                       | 8  |
| Замечания и меры предосторожности.....                                      | 8  |
| Работа с полосками .....                                                    | 8  |
| Образцы .....                                                               | 8  |
| Процедура анализа для <i>Auto-LiPA</i> .....                                | 9  |
| Результаты.....                                                             | 10 |
| Считывание.....                                                             | 10 |
| Подтверждение.....                                                          | 10 |
| Интерпретация результатов .....                                             | 11 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....               | 11 |
| Ограничения процедуры:.....                                                 | 11 |
| Проведение анализа .....                                                    | 11 |
| Реакционная способность зонда .....                                         | 11 |
| Точность .....                                                              | 12 |
| Прецизионность.....                                                         | 12 |
| Диапазон применения .....                                                   | 12 |
| Торговые знаки .....                                                        | 12 |

**Используемые обозначения**

Производитель



Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)



Код партии



Номер по каталогу





Срок годности



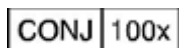
Следуйте рекомендациям по применению



Диапазон температур



Содержание, достаточное для &lt;n&gt; испытаний



Конъюгат 100x



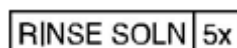
Конъюгат разбавитель



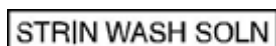
Раствор для денатурирования



Раствор для гибридизации



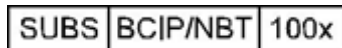
Раствор для промывания 5x



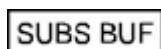
Раствор для жёсткой промывки



Полоски



Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x



Субстратный буфер



Опасность



Предупреждение



Анализ олигонуклеотидными зондами

### Предусмотренное применение

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-DPB – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения *in vitro* (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) аллелей DPB1.

### Принцип проведения испытания

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-DPB для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-DPB Amplification). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 1 типизирующей полосы, на которой находятся 24 последовательно-специфических зонда и 2 контрольных линии (Рисунок 1, См. Результаты).

#### **INNO-LiPA HLA-DPB: шаги**

Шаг 1 Амплификация экзона 2 локуса HLA-DPB1.

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 24 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-DPB.

Шаг 3 Проявление цвета.

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда.

INNO-LiPA HLA-DPB разработан с целью дать лучшее разрешение, используя метод обратной гибридизации на аллельном уровне (это отображается в четырёх первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA), например HLA-DPB1\*0801.

#### **Реагенты**

##### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все не вскрытые и хранящиеся в исходных пробирках при температуре 2-8°C реагенты для анализа, включая покрытые индикаторные полоски, остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты с истёкшим сроком годности.
- Все реагенты необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Набор необходимо хранить вдали от любого источника заражённого ДНК, особенно амплифицированных ДНК продуктов.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

Предоставляемые реагенты:

| <b><u>Компонент</u></b> | <b><u>Количество</u></b> | <b><u>Номер</u></b> | <b><u>Описание</u></b>                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------|--------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                 | 1 x 20                   | 57034               | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DPB Plus с синей полосой отметки.                                                                                                                                                      |
| Раствор для денатурации | 1 x 1 мл                 | 56718               | Щелочной раствор с содержанием этилендиаминтетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации. |
| Раствор для             | 1 x 80 мл                | 56719               | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА                                                                                                                                                                                         |

|                                                                         |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| гибридизации                                                            |            |       | (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Раствор для жёсткой промывки                                            | 1 x 200 мл | 56720 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Конъюгат разбавитель                                                    | 1 x 80 мл  | 56951 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                                           | 1 x 0,8 мл | 60685 | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте.                 |
| Субстратный буфер                                                       | 1 x 180мл  | 56953 | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 0,8 мл | 56954 | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Раствор для                                                             | 1 x 80 мл  | 56721 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl,                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

промывания 5х

тринитротолуола и 0.05% МПТ/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизированной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C. Каждый содержит по 8 лунок.

Планшет для инкубации 3

Считывающая карта 1

Для идентификации положительных зондов.

Листок учёта данных 2

Для хранения отработанных полосок.

### Не предоставляемые необходимые материалы:

- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа (±1 минута).

### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий. Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P333+P313 P302+P352 P363



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолий дихлорид: Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х  
H312 H319 H332 H360D  
P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

*Краткая характеристика опасностей*

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

*Меры предосторожности*

|                |                                                                                                                                                                         |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                                                                                                                        |
| P260           | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                                                                                                                        |
| P261           | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                                                                                                              |
| P280           | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.                                                                                            |
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                                                                                |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой в душе.                                                           |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание. |
| P308+P313      | Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                                        |
| P310           | Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.                                                                                                            |
| P333+P313      | При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                          |
| P302+P352      | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.                                                                                                       |
| P363           | Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.                                                                                                          |

- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.

- Прозеинфицировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
- Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
- Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия. Перед уничтожением дать постоять ночь.

**ВНИМАНИЕ:** перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.

- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.

- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

### **Образцы**

Так как анализ INNO-LiPA HLA-DPB использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации INNO-LiPA HLA-DPB Amplification.

### **Процедура работы**

#### **Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждого образца аликвоты.
- Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

#### **Работа с полосками**

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте карандаш для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До интерпретации, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.
- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25°C.
- Не используйте повторно лунки.

### **Образцы**

1. Амплифицированный HLA-DPB продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-DPB Amplification.

Примечание:

- Убедитесь, что добавили именно 10 мкг амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к неправильным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль; используйте 10 мкл).

### Процедура анализа для *Auto-LiPA*

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* была разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. Имеется кратко изложенная процедура анализа, а также руководство по эксплуатации. За более подробной информацией и специфическими условиями использования *Auto-LiPA*, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

1. Включите прибор и выберите процедуру HLA specific procedure HLA56V3.
2. Проверьте и подтвердите температуру гибридизации (55°C) на дисплее, нажав кнопку «да» («yes»). Прибор начнёт подготовку к опыту.
3. Подготовьте реагенты согласно описанию в разделе «Реагенты» данного документа и/или следующей таблицы:

| Тестовые реагенты LiPA | Разведение                     | Объём для N образцов |
|------------------------|--------------------------------|----------------------|
| Раствор для промывания | 1/5 в H <sub>2</sub> O         | (N x 12мл) + 20 мл   |
| Конъюгат               | 1/100 в конъюгате растворителе | (N x 2мл) + 10 мл    |
| Субстратный буфер      | Готов к использованию          | (N x 2мл) + 10 мл    |
| Субстрат               | 1/100 в Субстратном буфере     | (N x 2мл) + 10 мл    |

4. С помощью пинцета возьмите необходимое количество Полосок INNO-LiPA HLA-DPB из колбы (по одной полоске для тестового образца). Внесите полоску в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше синей линии отметки на полоске.
5. Возьмите планшет *Auto-LiPA* и поместите полоски в тестовые лунки (одна лунка на полоску).  
Примечание: Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет.
6. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.  
Примечание: Закройте пробирку немедленно после использования.
7. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы, см. Инструкцию по использованию INNO-LiPA HLA-DPB Amplification) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять 5 минут при температуре 20-25°C.
8. Когда прибор будет готов («insert tray»), загрузите планшет в прибор *Auto-LiPA*.
9. Когда опыт будет завершён, достаньте планшет из прибора *Auto-LiPA*. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до считывания результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.
10. По вопросам очистки прибора обращайтесь к кратко изложенной процедуре анализа, а также руководству по эксплуатации.

## Результаты

### Считывание

Рисунок 1 показывает расположение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DPB. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.



Рисунок 1: расположение линии отметки (синяя линия), контрольная линия конъюгата, контрольная линия HLA-DPB1 и 24 последовательно-специфических ДНК зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DPB.

### Подтверждение

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой анализа, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самая верхняя линия на полоске INNO-LiPA HLA-DPB является линией отметки (синяя). Эта линия позволяет правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной (если нет: нельзя производить интерпретацию!) и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске в ходе одной серии опытов.
- Следующая линия – линия внутреннего контроля гибридизации HLA-DPB1 (контроль HLA-DPB1 CTRL на считывающей карте), обозначающая, достаточное ли количество HLA-DPB1 амплифицированного материала было добавлено для гибридизации. Эта линия также является контрольной для условий гибридизации. Эта линия всегда должна быть положительной, за исключением негативных контролей, но её яркость может отличаться от одного образца к другому.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.



**Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первые две линии).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DPB и определите тип HLA-DPB1 путём ввода данных в версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS).

**Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA.

Пожалуйста, для получения последней обновлённой версии обратитесь в местному распространителю.

**Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- Полоски INNO-LiPA HLA-DPB предусмотрены для резолуции на аллельном уровне. Однако сочетание определённых аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и следовательно к неоднозначному ответу двух или более возможных сочетаний аллелей.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмами за пределами области зондов.
- «Типирование невозможно» (программное обеспечение LiRAS): может появиться из-за новых аллелей, которые обладают полиморфизмами в области зондов.

**Проведение анализа**

Проведение анализа с помощью INNO-LiPA HLA-DPB оценивалось в 23 лабораториях типирования тканей по всему миру в рамках Международного рабочего совещания по антигенам гистосовместимости, Франция, 1996 год.

В ходе исследования всего с помощью INNO-LiPA HLA-DPB было проанализировано 413 образцов. Результаты сравнивались с принятыми классическими техниками типирования (анализы на основе ДНК (PCR-SSO и PCR-RFLP) и/или типирование методом секвенирования (SBT)).

**Реакционная способность зонда**

Всего в ходе исследования с помощью INNO-LiPA HLA-DPB было выявлено 10 ложно-отрицательных и 6 ложно-положительных реакций.

В 2 случаях наблюдалось сочетание ложно-положительной и ложно-отрицательной реакций.

Доступен полный список характеристик зондов и праймера. Все зонды были созданы для проведения гибридизации в комплементарной последовательности на уровне одного несоответствия, если иное не указано в списке.

По запросу для подтверждения доступен отчёт о контроле качества реакционных способностей.

### ***Точность***

Всего 413 образцов, большинство которых анализировалось методом секвенирования, были типированы с помощью INNO-LiPA HLA-DPB и показали 92,7% (383/413) соответствия.

Статистика несоответствий:

18 образцов Ложно-отрицательный зонд, ложно-положительный зонд или их сочетание.

3 образца Ошибка записи или интерпретация не завершена или неверный вид, основанный на неравновесном сцеплении.

2 образца Новый аллель.

4 образца Для дальнейшего исследования недостаточно количество ДНК.

3 образца Иные причины (не определены).

### ***Прецизионность***

Исследования организации-производителя выявили, что тестирование внутри анализа, между анализами и между партиями всегда даёт одинаковый результат типирования.

### ***Диапазон применения***

Всего лишь 0,1 мкг экстракта ДНК ( $A_{260nm}/A_{280nm} > 1,5$ ) может использоваться в сопутствующем анализе амплификации, оставляя более чем достаточно ДНК для определения в LiPA

### ***Торговые знаки***

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.

- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.

## INNO-LiPA HLA-DPB Amplification



### Производство:

Fujirebio Europe N.V. Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

### Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

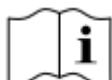
Fujirebio Italia S.r.l.  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Для получения информации на других языках посетите сайт:



[www.e-labeling.eu/FRI10388](http://www.e-labeling.eu/FRI10388)

### +800 135 79 135

00800 161 2205 7799  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5692  
0800 0100 567

### +31 20 794 7071

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

### ЕВРОПА

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

Необъединенная Европа  
США +1 855 236 0910  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая  
Зеландия, Россия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                       |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                            | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                    | 2                                      |
| Принцип проведения теста .....                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Материалы, которые требуются, но не предоставляются .....             | 3                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....          | 4                                      |
| Сбор, подготовка и хранение .....                                     | 4                                      |
| Выделение ДНК .....                                                   | 4                                      |
| Примечания и меры предосторожности .....                              | 4                                      |
| Процедура тестирования .....                                          | 5                                      |
| Результаты .....                                                      | 6                                      |
| Визуализация .....                                                    | 6                                      |
| Проверка достоверности .....                                          | 6                                      |
| Ограничения процедуры .....                                           | 6                                      |
| Эффективность анализа .....                                           | 7                                      |
| Разрешения .....                                                      | 7                                      |
| Товарные знаки .....                                                  | 7                                      |

**Используемые символы**

Производитель

Медицинский прибор для диагностики *в лабораторных условиях*

Код партии



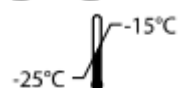
Номер по каталогу



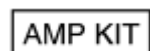
Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



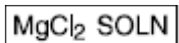
Ограничение температуры



Набор для амплификации



Буферный раствор для амплификации



Раствор хлорида магния



Раствор праймера

**Предполагаемое использование**

Набор INNO-LiPA HLA-DPB для использования в лабораторных условиях предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты второго экзона локуса DPB1 лейкоцитарного антигена человека (HLA) .

Реакция происходит посредством полимеразной цепной реакции. (ПЦР).

## Принцип проведения теста

Образец ДНК, предназначенный для амплификации с помощью ПЦР, помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTP), биотинилированные праймеры, а также термостабильную ДНК-полимеразу.

Праймеры амплифицируют целевую последовательность ДНК, указанную в "Предполагаемом использовании".

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, чтобы подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры комплементарны участкам, фланкирующим целевую последовательность. Таким образом, после охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг). При другой температуре и с использованием dNTP термостабильная ДНК-полимераза будет достраивать отождённые праймеры вдоль целевой матрицы (достройка). Таким образом, после одного цикла денатурации, отжига и расширения будут получены две точные биотинилированные копии матричной последовательности. После нескольких циклов будет получено огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить вдали от источников загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.

- С реагентами для процессов амплификации следует обращаться в помещении, свободном от амплифицированной ДНК. Следует использовать автоклавированные пробирки и наконечники для пипеток (желательно с ватными пробками).

- При условии хранения при температуре от -15 до -25°C в открытом или закрытом виде, в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить реагенты аликвотами и затем хранить при температуре от -15 до -25°C. (допускается 4 цикла замораживания / оттаивания).

- Не используйте реагенты после окончания срока годности набора.

- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                         | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------------|---------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации        | 1 x 0,3 мл    | 56982        | Содержит все дезоксинуклеотид 5'- трифосфаты (dNTP) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождите полного оттаивания перед использованием                                       |
| Раствор праймера                         | 1 x 0,3 мл    | 57029        | Содержит биотинилированные праймеры и 0.05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять.                                                        |
| Раствор хлорида магния MgCl <sub>2</sub> | 1 x 0,3 мл    | 55701        | Содержит 0.05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился, и доведите до температуры 20 - 25°C. |

## Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов (желательно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Автоклавированная дистиллированная вода
- Минеральное масло (по запросу).

- Термостабильная ДНК-полимераза (рекомендуется ДНК-полимераза)

#### **Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к **Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).**
- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

#### **Образцы, подготовка и хранение**

Примечание: Реагенты не поставляются.

#### **Выделение ДНК**

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Образцы ДНК следует хранить при температуре от -15 до -25°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию  $\geq 0.02 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ .  
Чистота ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1.5$ .**

#### **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты должны быть изолированы от любого источника загрязняющей ДНК, особенно от продуктов амплифицированной ДНК.
- Избегайте микробного загрязнения реагентов.
- Избегайте обратного перемещения материалов из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.
- Все наконечники дозаторов и пробирки, которые используются в процессе амплификации, должны быть стерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозаторов с ватными пробками.
- Для каждого поделённого на аликвоты образца следует использовать новый стерильный наконечник дозатора.
- После разморозки смешайте в вортекс-миксере буферный раствор для амплификации и раствор  $\text{MgCl}_2$  и осадите путём центрифугирования все реагенты.
- Не смешивайте реагенты между наборами, если компоненты не имеют одинаковых номеров партий.

## Процедура тестирования

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Данный протокол для амплификации экзона 2 аллелей HLA-DPB1 предназначен для оптимальной амплификации с использованием пробирок для ПЦР GeneAmp® (объемом 0,5 мл) и PE-480 термоциклеры или MicroAmp ПЦР-системы (объемом 0.2 мл) и 9700 GeneAmp® ПЦР-системы термоциклеры, используя AmpliTaq ДНК полимеразу.
- Этот протокол может использоваться для большинства коммерческих типов термоциклеров, но может потребовать некоторых модификаций, указанных производителем циклера.
- Перед использованием следует определить, совместим ли протокол с термоциклером, который используется в Вашей лаборатории. Перед использованием термоциклер должен быть обязательно откалиброван.
- Следует принять необходимые меры предосторожности во избежание неспецифичной амплификации и формирования димеров праймера, что может негативно повлиять на результаты:
  - Выполните пипетирование на льду без задержки.
  - Предварительно нагрейте (до  $96^{\circ}\text{C} \pm 0.75^{\circ}\text{C}$ ) нагревательный блок термоциклера перед тем, как поместить в него образцы, после чего немедленно начните процесс выполнения цикла.
- 1. Разбавьте каждую геномную ДНК до концентрации от 0,1 до 0,02 мкг/мкл в буферном растворе ЭДТА.
- 2. Определите количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:
  - N = количество образцов ДНК + 1 (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1
  - При помощи наконечников дозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовьте основной раствор в стерилизованной в автоклаве пробирке объемом 1,5 мл:

(N x 14.8 мкл) Автоклавируемая дистиллированная вода  
+(N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации  
+(N x 10 мкл) раствор праймера DPB  
+(N x 10 мкл) хлорид магния  $\text{MgCl}_2$ .  
+(N x 0.2 мкл) Taq Полимеразы 5 Ед / мкл (N x 1 U).

Быстро перемешайте на вортексе и распределите аликвотами 45 мкл этой исходной смеси (мастер-микс) в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

ПРИМЕЧАНИЕ: Каждый компонент необходимо добавлять и поставлять в нужном количестве. Слишком много или слишком мало образца или реагента может привести к специфической амплификации или даже к отсутствию амплификации.

При необходимости добавьте 2 капли (~ 40 мкл) минерального масла в каждую пробирку (например, при использовании PE-480).

3. Отмерьте дозатором 5 мкл (0,1 – 0,5 мкг) раствора геномной ДНК (через минеральное масло при необходимости).

Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не перемешивайте на вортексе и не смешивайте.
- Проверьте, чтобы смесь для амплификации находилась на дне пробирки.

4. Поместите образцы в предварительно нагретый и откалиброванный нагревательный блок (см. инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, предназначенную для амплификации INNO-LiPA HLA-DPB.

DPB1 протокол амплификации:

| Тип циклера |                     | PE-480 | PE-2400 | PE-9600 |
|-------------|---------------------|--------|---------|---------|
| Этап        | Температура         | Время  |         | Время   |
| 1           | денатурация         | 96°C   | 5 мин   | 5 мин   |
| 2           | денатурация         | 96°C   | 20 сек. | 15 сек. |
| 3           | отжиг праймеров     | 55°C   | 20 сек. | 20 сек. |
| 4           | достройка праймеров | 72°C   | 30 сек. | 20 сек. |
| 5           | удлинение           | 72°C   | 10 мин  | 10 мин  |

5. После процесса амплификации сразу же используйте образцы с полосой INNO-LiPA HLA-DRB или храните образцы при температуре от -15 до -25°C.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не храните амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

## Результаты

### Визуализация

- Присутствие ампликонов может быть проверено 2% агарозным гелем. В каждый слот поместите 10 мкл амплифицированного продукта. После амплификации появится ампликон в виде одной полосы размером 280 пар оснований.

## Проверка достоверности

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении реакции амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует учитывать включение дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

## Ограничения процедуры

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может быть причиной полностью неудавшегося анализа.
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторная заморозка/разморозка образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке праймера считается слишком низким, так как ошибка праймера еще никогда не наблюдалась. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведенных процедур обеспечивают специфическую амплификацию.



### **Эффективность анализа**

Оценка «INNO-LiPA HLA-DRB» проводилась в двадцати трех лабораториях по типированию тканей в рамках 12-го Международного семинара по гистосовместимости, Франция, 1996 г. В ходе исследования ошибок амплификации «INNO-LiPA HLA-DRB» не было.

### **Разрешения**

Приобретение этого продукта позволяет покупателю использовать его для амплификации последовательностей нуклеиновых кислот для диагностики человека в лабораторных условиях в соответствии с запатентованным методом, описанным во вкладыше к упаковке. Настоящим не предоставляется никаких общих патентов или других лицензий, кроме этого конкретного права на использование с момента покупки.

Товарные знаки

### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными товарными знаками Applied Biosystems, LLC.

# LiRAS для LiPA HLA

☆ v7.01

REF 80492

☆ Укажите изменения

## РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ



[www.e-labeling.eu/FRI61879](http://www.e-labeling.eu/FRI61879)

### ЕВРОПА

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лихтенштейн  
Мальта  
Эстония

### не-ЕВРОПА

США  
Канада  
Аргентина, Бразилия, Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая Зеландия, Россия

### +800 135 79 135

00 800 161 220 577 99  
800 8996  
880 030 728  
0800 895 084  
0800 606 287  
0800 142 064 866  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5693  
0800-0100 567

### +31 20 794 7071

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

8:00 – 17:00 GMT+1

|                                     |                                     |                                     |                                     |                                     |                          |                          |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| M                                   | T                                   | W                                   | T                                   | F                                   | S                        | S                        |
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Изготовлены по:

Fujirebio Europe N.V.

Технолопарк 6

9052 Гент

Бельгия

Тел: +32 9 329.13.29

Факс: +32 9 329.19.11

[www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com)



# FUJIREBIO



FRI61879  
B31426 Rev1  
2017-05-29

# СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>СОДЕРЖАНИЕ .....</b>                                                         | <b>2</b>  |
| <b>1. LIRAS .....</b>                                                           | <b>6</b>  |
| 1.1. Использование по назначен .....                                            | 6         |
| 1.2. О программе .....                                                          | 6         |
| 1.2.1. Учебное пособие SYSDBA .....                                             | 6         |
| 1.2.2. Руководство пользователя .....                                           | 6         |
| 1.3. Помощь .....                                                               | 6         |
| 1.4. Предупреждения .....                                                       | 6         |
| 1.5. Условные обозначения .....                                                 | 8         |
| <b>2. ТЕРМИНОЛОГИЯ.....</b>                                                     | <b>9</b>  |
| <b>3. УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ПО SYSDBA .....</b>                                       | <b>15</b> |
| 3.1. Создание нового пользователя.....                                          | 15        |
| 3.2. Настройка отчетов .....                                                    | 15        |
| 3.3. Специальная лабораторная информация.....                                   | 16        |
| 3.4. Калибровка сканера.....                                                    | 16        |
| 3.5. Установка плагинов.....                                                    | 17        |
| 3.6. Удаление приложения .....                                                  | 18        |
| <b>4. РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ.....</b>                                         | <b>19</b> |
| 4.1. Войдите как новый пользователь .....                                       | 19        |
| 4.1.1. Когда приложение не запущено .....                                       | 19        |
| 4.1.2. Когда другой пользователь вошел в систему.....                           | 19        |
| 4.2 Создать новый тест.....                                                     | 20        |
| 4.2.1. Ручной ввод.....                                                         | 20        |
| 4.2.2. Сканирование .....                                                       | 20        |
| <b>5. ОБЩЕЕ .....</b>                                                           | <b>22</b> |
| 5.1. Процедура запуска и входа в систему .....                                  | 22        |
| 5.1.1. Первый вход .....                                                        | 22        |
| 5.1.2. Войдите как известный пользователь.....                                  | 22        |
| 5.1.3. Устранение неполадок: что делать... ..                                   | 22        |
| 5.2. Выход .....                                                                | 23        |
| 5.3. Выбор записей .....                                                        | 24        |
| 5.3.1. Выберите одну запись в таблице базы данных: .....                        | 24        |
| 5.3.2. Выбрать несколько последовательных записей в таблице базы данных:.....   | 24        |
| 5.3.3. Выбрать несколько непоследовательных записей в таблице базы данных: .... | 24        |
| 5.4. Изменение порядка столбцов .....                                           | 25        |
| 5.5. Отображение / скрытие столбцов .....                                       | 25        |
| 5.6. Поменять пользователя.....                                                 | 25        |
| 5.7. Сменить пароль.....                                                        | 25        |
| 5.8. Сортировать по .....                                                       | 26        |
| 5.9.Поиск.....                                                                  | 26        |
| 5.10. Управление фильтром.....                                                  | 27        |
| 5.10.1. Создать новый фильтр .....                                              | 27        |
| 5.10.2. Загрузить существующий фильтр.....                                      | 28        |
| 5.10.3. Активация / деактивация фильтра.....                                    | 28        |
| <b>6. УПРАВЛЕНИЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯМИ .....</b>                                       | <b>29</b> |
| 6.1. Группы пользователей.....                                                  | 29        |
| 6.2. Создать новую запись пользователя .....                                    | 30        |
| 6.3. Редактировать запись пользователя.....                                     | 31        |
| 6.4. Удалить запись пользователя.....                                           | 31        |

|                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.5. Устранение неисправностей: что делать...                | 32        |
| <b>7. СИСТЕМНЫЕ НАСТРОЙКИ.....</b>                           | <b>33</b> |
| 7.1. Управление пользователями.....                          | 33        |
| 7.2. Автоматический просмотр теста .....                     | 34        |
| 7.3. Управление списком работ .....                          | 34        |
| 7.4. LiPA HLA Управление аллельным кодом.....                | 34        |
| 7.5. Модуль библиотеки LiPA HLA .....                        | 35        |
| <b>8. УПРАВЛЕНИЕ СКАНЕРОМ.....</b>                           | <b>36</b> |
| 8.1. Конфигурация сканера.....                               | 36        |
| 8.2. Калибровка сканера.....                                 | 36        |
| 8.3. Защита калибровки .....                                 | 37        |
| 8.4. Устранение неисправностей: что делать.....              | 38        |
| <b>9. ТЕСТ: ОБЩИЙ.....</b>                                   | <b>39</b> |
| 9.1. Обзор .....                                             | 39        |
| 9.1.1. Просмотр записей пациентов или врачей .....           | 39        |
| 9.1.2. Создание новой записи о пациенте или враче.....       | 39        |
| 9.2. Автоматическое предложение пациента .....               | 39        |
| 9.3. Устранение неисправностей: что делать.....              | 40        |
| <b>10. ПРОВЕРКА: РУЧНОЙ ВВОД .....</b>                       | <b>41</b> |
| 10.1. Поиск.....                                             | 42        |
| 10.2. Как войти в положительную полосу.....                  | 42        |
| 10.3. Как исправить неправильную запись .....                | 42        |
| 10.4. Устранение неисправностей: что делать.....             | 42        |
| <b>11. УПРАВЛЕНИЕ ЛОГИЧЕСКИМ ШАБЛОНОМ .....</b>              | <b>43</b> |
| 11.1. Создать новый логический шаблон .....                  | 43        |
| 11.1.1. На основе пустого шаблона .....                      | 43        |
| 11.1.2. На основе существующего шаблона .....                | 43        |
| 11.1.3. Добавить полосу в редактор логических шаблонов ..... | 44        |
| 11.1.4. 10.1.4 Добавление серой шкалы .....                  | 44        |
| 11.1.5. Выберите несколько последовательных полос .....      | 45        |
| 11.1.6. Удаление полосы .....                                | 45        |
| 11.1.7. Перемещение полосы.....                              | 45        |
| 11.1.8. Заполнение логических шаблонов.....                  | 45        |
| 11.1.9. Добавить .....                                       | 46        |
| 11.1.10. Разделить .....                                     | 46        |
| 11.2. Редактирование логического шаблона .....               | 46        |
| 11.3. Удаление логического шаблона .....                     | 47        |
| 11.4. Просмотр логического шаблона .....                     | 47        |
| <b>12. УПРАВЛЕНИЕ СПИСКОМ .....</b>                          | <b>48</b> |
| 12.1. Создать новый список.....                              | 48        |
| 12.1.1. Детали списка .....                                  | 48        |
| 12.1.2. Детали списка .....                                  | 48        |
| 12.1.3. Детали полосы .....                                  | 49        |
| 12.1.4. Добавление полосы.....                               | 49        |
| 12.1.5. Добавление шкалы серого .....                        | 49        |
| 12.1.6. Выберите несколько последовательных полос .....      | 50        |
| 12.1.7. Удаление полосы .....                                | 50        |
| 12.1.8. Перемещение полосы .....                             | 50        |
| 12.1.9. Заполнение списка .....                              | 50        |
| 12.1.10. Присоединение к.....                                | 51        |

|                                                         |           |
|---------------------------------------------------------|-----------|
| 12.1.11. Отмена.....                                    | 51        |
| 12.1.12. Сохранить лист как логический шаблон .....     | 52        |
| 12.2. Редактировать список .....                        | 52        |
| 12.3. Удалить список .....                              | 52        |
| 12.4. Просмотр списка .....                             | 53        |
| 12.5. Обзорный отчет по листу .....                     | 53        |
| 12.6. Сканирование списка .....                         | 53        |
| <b>13. ТЕСТ: СКАНИРОВАНИЕ .....</b>                     | <b>54</b> |
| 13.1. Подготовка полосы .....                           | 54        |
| 13.2. Тест: Сканирование .....                          | 54        |
| 13.2.1. Повторное сканирование.....                     | 56        |
| 13.2.2. Отмена повторного сканирования .....            | 56        |
| 13.3. Устранение неисправностей: что делать.....        | 57        |
| <b>14. ТЕСТ: ПРОВЕРКА И УТВЕРЖДЕНИЕ .....</b>           | <b>58</b> |
| 14.1. Управление подписчиками .....                     | 58        |
| 14.1.1. Создание новой записи подписывающего лица ..... | 58        |
| 14.1.2. Редактирование записи подписавшего.....         | 59        |
| 14.1.3. Редактирование записи подписывающего .....      | 59        |
| 14.2. Удаление записи подписывающего .....              | 59        |
| 14.2.1. Статус теста .....                              | 60        |
| 14.3. Управление обзором тестов.....                    | 60        |
| 14.3.1. Обзор теста.....                                | 60        |
| 14.3.2. Повторное назначение теста.....                 | 61        |
| 14.4. Устранение неполадок: что делать.....             | 61        |
| <b>15. ТЕСТОВЫЙ БРАУЗЕР .....</b>                       | <b>62</b> |
| 15.1. Редактирование теста.....                         | 62        |
| 15.2. Удаление теста .....                              | 62        |
| 15.3. Изменения.....                                    | 62        |
| <b>16. ОТЧЕТ .....</b>                                  | <b>64</b> |
| 16.1. Настройка заголовка отчета .....                  | 64        |
| 16.2. Добавление отдельной лабораторной информации..... | 65        |
| 16.3. Предварительный Отчет .....                       | 66        |
| 16.3.1. Параметры Отчета .....                          | 66        |
| 16.4. Устранение неполадок: что делать.....             | 67        |
| <b>17. HLA В ОБЩЕМ .....</b>                            | <b>68</b> |
| 17.1. Определения.....                                  | 68        |
| 17.2. Обновление списка анонимных кодов NMDP .....      | 68        |
| 17.3. Управление таблицей ввода текста .....            | 69        |
| 17.3.1. Показать таблицу набора текста .....            | 69        |
| 17.3.2. Отключить / включить таблицы ввода текста.....  | 69        |
| 17.4. Управление HLA-фильтром .....                     | 70        |
| 17.4.1. Фильтр HLA модели.....                          | 70        |
| 17.4.2. Устранение неполадок: Что делать... ..          | 71        |
| <b>18. ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ .....</b>                      | <b>72</b> |
| 18.1. Создать новую запись о пациенте.....              | 72        |
| 18.2. Редактировать карту пациента .....                | 73        |
| 18.3. Удалить запись о пациенте .....                   | 73        |
| 18.4. Импорт .....                                      | 74        |
| 18.5. Экспорт .....                                     | 74        |
| 18.6. Устранение неполадок: Что делать.....             | 74        |

|            |                                                                          |           |
|------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>19.</b> | <b>РУКОВОДСТВО ВРАЧА.....</b>                                            | <b>75</b> |
| 19.1.      | Создать новую запись врача .....                                         | 75        |
| 19.2.      | Редактирование записи врача .....                                        | 75        |
| 19.3.      | Удалить запись врача .....                                               | 76        |
| 19.4.      | Импорт .....                                                             | 76        |
| 19.5.      | Экспорт .....                                                            | 77        |
| 19.6.      | Устранение неполадок: Что делать.....                                    | 77        |
| <b>20.</b> | <b>ПОДКЛЮЧЕНИЕ LIMS.....</b>                                             | <b>78</b> |
| 20.1.      | Виды рабочих списков .....                                               | 78        |
| 20.2.      | Статус рабочего списка .....                                             | 78        |
| 20.3.      | Управление списком работ.....                                            | 78        |
| 20.3.1.    | Создать новый список работ вручную .....                                 | 79        |
| 20.3.2.    | Удалить рабочий список.....                                              | 79        |
| 20.3.3.    | Импорт рабочего списка из LIMS .....                                     | 79        |
| 20.3.4.    | Экспорт тестов, прикрепленных к рабочему списку.....                     | 80        |
| 20.4.      | Устранение неполадок: Что делать.....                                    | 80        |
| 20.5.      | Тестовый экспорт .....                                                   | 81        |
| <b>21.</b> | <b>ОКНО РЕЗЕРВНОГО КОПИРОВАНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ .....</b>                | <b>82</b> |
| 21.1.      | Резервное копирование .....                                              | 82        |
| 21.1.1.    | Создайте резервную копию базы данных, установленной на вашем ПК.....     | 82        |
| 21.1.2.    | Создать резервную копию из базы данных, установленной на другом ПК ..... | 84        |
| 21.1.3.    | Создать резервную копию автоматически .....                              | 85        |
| 21.2.      | Восстановление .....                                                     | 87        |
| 21.2.1.    | Восстановление базы данных на вашем ПК .....                             | 88        |
| 21.2.2.    | Восстановление базы данных на другом ПК или сервере.....                 | 89        |
| <b>22.</b> | <b>РЕЗЕРВНЫЙ ПРОСМОТР ИНФОРМАЦИИ .....</b>                               | <b>91</b> |
| 22.1.      | Создайте резервную копию базы данных на вашем компьютере.....            | 91        |
| 22.2.      | Расширение базы данных .....                                             | 92        |
| <b>23.</b> | <b>УПРАВЛЕНИЕ АУДИТОРСКИМИ ПРОВЕРКАМИ .....</b>                          | <b>93</b> |
| 23.1.      | Экспорт записи .....                                                     | 93        |
| <b>24.</b> | <b>ПОДДЕРЖКА .....</b>                                                   | <b>94</b> |
| 24.1.      | Техническая поддержка.....                                               | 94        |
| <b>25.</b> | <b>ТОРГОВЫЕ МАРКИ .....</b>                                              | <b>95</b> |

# 1. LIRAS

## 1.1. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

LiRAS расшифровывается как **Line Reader** и **Analysis Software**. Он служит инструментом, предназначенным для поддержки интерпретации диагностических продуктов..

## 1.2. О ПРОГРАММЕ...

### 1.2.1. Учебное пособие по SYSDBA

Учебное пособие SYSDBA помогает системному администратору (SYSDBA) с наиболее важными основными функциями, которые необходимы для настройки приложения и для того, чтобы другие пользователи начали использовать это приложение. Эти функции будут более подробно описаны в конкретных главах руководства.

### 1.2.2. Руководство пользователя

Учебник пользователя объясняет, как войти в систему и создать тесты. Эти функции будут более подробно описаны в отдельных главах руководства.

## 1.3. ПОМОЩЬ

Нажмите **<F1>** для контекстно-конкретной помощи. Нажмите **Справка > Содержание** или щелкните кнопку **Справка** кнопка  в **Браузере** панель инструментов чтобы открыть экран «Добро пожаловать» в меню справки. Подсказки также отображаются в нижнем левом углу экрана при наведении указателя мыши на кнопку или пункт меню.

## 1.4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТИ ДАННЫХ, НЕ ОСТАВЛЯЙТЕ ЗАЯВКУ БЕЗ ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ ВХОДА В РЕГИСТРАЦИЮ!                                                                                          |
|  | РЕГУЛЯРНО СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНЫЕ КОПИИ СВОЕЙ БАЗЫ ДАННЫХ!                                                                                                                                                         |
|  | НЕ ОТКРЫВАЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ ВО ВРЕМЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ!                                                                                                                                                   |
|  | НЕ СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНУЮ КОПИЮ БАЗЫ ДАННЫХ ВО ВРЕМЯ РАБОТЫ ПРИЛОЖЕНИЯ!<br><br>ЕСЛИ ВЫ ВОССТАНАВЛИВАЕТЕ БАЗУ ДАННЫХ С НЕСКОЛЬКИМИ ФАЙЛАМИ РЕЗЕРВНЫХ КОПИИ, УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ВЫБРАЛИ КАЖДЫЙ ФАЙЛ РЕЗЕРВНОЙ КОПИИ! |
|  | ВСЕГДА УСТАНАВЛИВАЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ НА ЛОКАЛЬНЫЙ ДИСК ВАШЕГО КОМПЬЮТЕРА. А НЕ НА СЕТЕВОМ ДИСКЕ!                                                                                                                    |



ИСПОЛЬЗУЙТЕ ТОЛЬКО СОВМЕСТИМЫЕ СКАНЕРЫ, ОПИСАННЫЕ В БУКЛЕТЕ CD-ROM!



ИСПОЛЬЗУЙТЕ ТОЛЬКО НАСТРОЕННЫЙ И ОТКАЛИБРОВАННЫЙ СКАНЕР!



КАЛИБРУЙТЕ СВОЙ СКАНЕР ЕЖЕМЕСЯЧНО!



КАЛИБРОВКУ СКАНЕРА СЛЕДУЕТ ПОВТОРИТЬ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВОГО СКАНЕРА  
ТАКОГО ЖЕ ТИПА, КАК ПРЕДЫДУЩИЙ СКАНЕР!



ВАША СЕРАЯ ШКАЛА ЧУВСТВИТЕЛЬНА К СВЕТУ. УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ХРАНИТЕ  
ЕЕ В ТЕМНОТЕ!



ДЕРЖИТЕ СВОЮ СЕРУЮ ШКАЛУ ЧИСТОЙ И НЕПОВРЕЖДЕННОЙ!



НЕ УДАЛЯЙТЕ СЕРУЮ ШКАЛУ ПОСЛЕ ТОГО, КАК ОНА ПРИКРЕПЛЕНА К ШАБЛОНУ ЧТЕНИЯ!



СКАНИРОВАНИЕ ВЛАЖНЫХ ПОЛОС МОГУТ ДАТЬ ОШИБОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ!



ВСЕГДА ПРОВЕРЯЙТЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СКАНИРОВАНИЯ ВНЕШНЕ!



## 1.5. КОНВЕНЦИИ

Чтобы упростить использование этого руководства, были реализованы следующие соглашения:

- Все параметры, которые можно щелкнуть указателем мыши, выделены жирным шрифтом, как и панели инструментов, поля и вкладки.
- Когда доступно, значок будет выделен жирным шрифтом рядом с параметром.
- Ключи пишутся как заглавными буквами, так и жирным шрифтом и отмечены знаком "< >".



- Процессы обозначаются лампочкой .
- Примечания обозначаются "Примечание".



- Подсказки обозначаются знаком "Подсказки" .



- Вопросы (устранение неполадок) обозначаются вопросительным знаком .



- Предупреждения обозначаются восклицательным знаком .

## 2.ТЕРМИНОЛОГИЯ

### А

- Абсолютный OD  
Абсолютный OD - это оптическая плотность полосы до вычитания OD фона
- Администратор  
Администратор - одна из predetermined групп пользователей в приложении. Набор привилегий назначается определенной группе пользователей, и пользователь, принадлежащий к этой группе, наследует все эти привилегии. Администратор имеет полные права на функции управления данными
- Рекомендации  
В рекомендации перечисляются полосы уточнения, которые могут быть обработаны, чтобы сузить результат печати.
- Панель выравнивания  
Полоса выравнивания - это черная вертикальная линия на шаблоне для считывания, используемая для размещения полосок на шаблоне. Контрольная линия полосок должна совпадать с этой полосой.
- Аллель  
Любая из альтернативных форм гена, которая может возникнуть в данном локусе.
- Типизация группы аллелей  
Типизация группы аллелей отображает группы аллелей, которые присутствуют в результате типизации. Он выводится из списка возможных комбинаций аллелей, сгенерированных алгоритмом набора текста.
- Специфика аллелей  
Специфичность аллели перечисляет все нуклеотиды для каждой аллели, включенной в стандартный результат типизации.
- Режим ожидания  
Если стандартный результат набора или результат виртуального набора недоступен, приложение генерирует результат набора, добавляя или вычитая один или два зонда. Эти ожидаемые результаты набора представлены в разных случаях. Эту информацию следует рассматривать как дополнительную, а не как решающую.
- Применять фильтр  
Активируйте фильтр, чтобы отобразить определенный набор записей в таблице базы данных.
- Дата анализа • Прикрепить к  
Определите, что полоски одного типа теста принадлежат друг другу. Прикрепленные полоски составляют один тест.
- Контрольный журнал  
Внутренний журнал приложения, регистрирующий все изменения, внесенные в данные, представленные в приложении
- Автоматический обзор теста
- Средний фон  
Средний фон - это среднее значение абсолютной оптической плотности белой области между полосами на полосе.

### В

- Резервное копирование  
Копия базы данных для предотвращения потери данных в случае случайного повреждения или повреждения исходной базы данных.
- Группа  
Линия на полосе.
- Растровый логотип  
Файл изображения (в формате \* .bmp), используемый в приложении в качестве заголовка отчета.
- Яркость  
Настройка сканера, регулирующая баланс между светлыми и темными оттенками изображения.
- Широкий ввод  
Набор на уровне группы аллелей. Детали набора текста на аллельном уровне не включены.
- Браузер

## C

- Калибровка (до)  
Чтобы настроить параметры сканера таким образом, чтобы они оптимально соответствовали набору предварительно определенных стандартов. (Относится к подгонке кривой).
- Защита калибровки  
Эта опция позволяет проверить, нуждается ли ваш сканер в повторной калибровке. Когда вы добавляете серую шкалу на лист и запускаете процедуру сканирования, приложение проверяет, соответствует ли кривая, полученная с помощью этой серой шкалы, исходной калибровочной кривой в соответствии со спецификациями. Если кривые слишком сильно отличаются, приложение посоветует вам откалибровать сканер.
- Настроить (на)  
Во время настройки приложение определит, можно ли определить все необходимые настройки для сканера. Это укажет, можно ли использовать сканер.
- Непрерывный режим  
Когда выбран этот параметр, **Введите новый тест** диалог того же теста будет отображаться постоянно после завершения теста и нажатия кнопки **ОК** кнопку, пока опция снова не отключится.
- Контраст  
Степень различия между самыми светлыми и самыми темными частями изображения. Высокая контрастность позволяет лучше различать различные оттенки серого.
- Контрольная полоса / линия
- Ядро  
Базовая платформа LiRAS, содержащая основные функции и логику приложения.
- Подгонка Кривой  
Процесс нахождения параметров в математическом выражении кривой для получения наилучшего соответствия заданному набору стандартов.
- Выборочная установка
- Отрезать  
Заранее заданное значение OD, которое определяет реактивность полосы с точки зрения положительности или отрицательности (например, если измеренное значение OD полосы > порогового значения, полоса считается положительной).

## D

- Отсоединиться (от)  
Чтобы отменить прикрепленное состояние полосок. Отсоединенная полоска больше не будет частью теста, к которому она была прикреплена.
- • Отклонение
- • Отключить  
Отключенные записи (например, отключенные записи пациента) по-прежнему перечислены на соответствующем экране управления, но их больше нельзя выбрать (например, при вводе нового теста).

## E

- Доступен (для)  
Чтобы отменить отключенное состояние записи.
- Экспорт (в)  
Извлечь данные из базы данных и сохранить их на жестком диске или сетевом диске.

## F

- Лицевой стороной вниз
- Ложноотрицательный / положительный
- Заполнить
- Управление фильтром

Эта опция позволяет анализировать данные в таблице базы данных, то есть вы можете фильтровать таблицу базы данных, чтобы увидеть записи, соответствующие определенным условиям.

- Ф.И.О

## G

- Гамма (коррекция/компенсация)

Гамма-компенсация выполняется для предварительной компенсации изображения неоптимального отклика устройств отображения, таких как принтеры и мониторы. Если вы не выполните гамма-компенсацию сканирования, изображение будет довольно темным при отображении и печати.

- Серая шкала

Специальная полоска, состоящая из разных оттенков серого (от белого до черного), используется для калибровки сканеров.

- Директива

Набор инструкций и спецификаций для использования с определенной таблицей типов LiPA HLA.

## H

- Тип заголовка
- HLA

Лейкоцитарный антиген человека

## I

- Импорт (в)

Ввести файл данных с жесткого или сетевого диска и сохранить его в базе данных приложения.

- Установить плагины

Инструмент для установки новых или измененных модулей приложения предоставляется с помощью параметра «Установить плагины» в меню

Администратора.

Количество света, отраженного полосой на полосе; черный с самой низкой интенсивностью и белый с самой высокой интенсивностью.

- Интерпретация

Процесс, в котором реактивности полосок теста преобразуются в результат в соответствии с правилами алгоритма интерпретации.

- Недействительный

Полоска считается недействительной, если не соблюдены критерии для конкретного типа теста. Недопустимые полосы не интерпретируются.

## J

## K

## L

- Информация о лаборатории

Эта системная настройка позволяет персонализировать отчет об анализе. Вы можете ввести информацию, такую как адрес или номер телефона, которая заменит заголовок отчета по умолчанию.

- Связь с LIMS

- LiRAS

Программное обеспечение для считывания и анализа линий.

- Загрузить фильтр
- Локальный диск
- Управление логическими шаблонами  
Логический шаблон - это виртуальное изображение всех позиций полос и соответствующих им типов полос.
- Авторизоваться
- Логин
- Выйти
- Поиск

## М

- Настройка в ручную
- Ручная настройка  
Это сообщение добавляется в браузер тестирования и сообщает о том, что отсканированная полоса не может быть обнаружена автоматически программным обеспечением. Оно указывает на то, что помощник по локализации полосы позволил пользователю определить точное положение полосы.
- Маркер  
Маркер - это предварительно нанесенная цветная линия на полосе, которая позволяет различать разные типы полос.
- Модуль  
Часть приложения, содержащая ряд функций.
- Мутант
- Мутация  
Относительно постоянное изменение наследственного материала, включающее либо физическое изменение хромосомных отношений, либо биохимическое изменение кодонов, составляющих гены.

## Н

- Вложенное условие  
Вложенное условие группирует ряд критериев в рамках другого условия.
- NMDP  
Национальная Программа Доноров Костного Мозга

## О

- Один лайнер  
При использовании **LiPA HLA**-типировочной таблицы не каждая аллель может быть однозначно определена с определенным образцом зонда. Различные аллели, имеющие одну и ту же закономерность, будут размещены на одной линии печатного стола. Термин "один лайнер" используется для обозначения такой группы аллелей.
- Оптическая плотность, OD  
Оптическая плотность измеряет коэффициент пропускания или отражения на заданной длине волны через оптическую среду или посредством нее. Чем выше OD, тем ниже коэффициент пропускания / отражения.
- Отмена  
Замените уже интерпретированную полосу новой.
- Владелец

## Р

- Ведение пациентов
- Руководство врача
- Плагин  
Программный модуль, содержащий определенные функции или алгоритмы.
- Привилегия

## Q

- Привилегированный пользователь  
Привилегированный пользователь - это одна из predeterminedных групп пользователей в приложении. Набор привилегий присваивается определенной группе пользователей, и пользователь, принадлежащий к этой группе, наследует все эти привилегии. Привилегированный пользователь имеет полные права на персональные данные и права только на чтение данных других пользователей.

## R

- Относительный OD
- Заголовок отчёта
- Повторное сканирование  
Эта опция доступна в редакторе листов и позволяет выполнить повторное сканирование полосы. Затем будет создана новая редакция теста.
- Разрешение  
Степень детализации изображения. Разрешение сканера - это способность этого сканера разрешать мелкие детали оригинала.
- • Восстановить (в)  
Чтобы заменить поврежденный или поврежденный файл базы данных резервной копией.
- Редакция  
Номер редакции определяет версию тестовой записи. Каждый раз, когда выполняется интерпретация, записи теста присваивается новый номер редакции. Каждое изменение теста вручную создает новую версию, которая добавляется в базу данных. При необходимости можно просмотреть каждую версию.

## S

- Образец полосы
- Управление сканером
- Поиск
- Серологический эквивалент
- Управление листами  
Лист - это логический шаблон, на котором вводятся все конкретные данные испытаний. Листы используются для ввода конкретных образцов путем сканирования.
- Управление подписчиками
- Сортировать по  
Эта функция позволяет вам тщательно и индивидуально сортировать все записи.
- Перечень особенностей  
В наборах LiPA HLA все зонды предназначены для обнаружения специфических последовательностей и различия полиморфизмов определенных аллельных областей. Для каждого зонда код(ы), для которого этот зонд обнаруживает специфическую последовательность, идентифицируется как специфичность.
- Ассистент по локализации полос  
Функция, позволяющая указать положение полосы вручную, когда приложению не удается найти полосу автоматически.
- SYSDBA
- Системный администратор  
Системный администратор - это предварительно определенный пользователь в приложении. Этот пользователь уникален и имеет полные права на управление данными и системой.
- Системные настройки
- Системный пользователь  
Системный пользователь - это одна из predeterminedных групп пользователей в приложении. Набор привилегий назначается определенной группе пользователей, и пользователь, принадлежащий к этой группе, наследует все эти привилегии. Пользователь системы может создавать новые тесты и имеет права только на чтение личных данных.
- Сменить пользователя

## T

- Тестовый браузер  
Главное окно приложения, используемое для просмотра и визуализации всех образцов, присутствующих в приложении.
- Категория испытаний
- Обзор управления тестов
- Панель инструментов
- Прикоснуться  
Статус теста, который указывает, что новая версия теста была создана, но еще не интерпретирована (например, когда полоска заменяется другой полоской, которая еще не сканировалась).
- Поиск и устранение неисправностей
- Инструкция
- Механизм набора текста  
Механизм набора текста содержит алгоритм, который отвечает за создание результата теста.
- Таблица набора текста  
Таблица с указанием реакций зонда для всех известных аллелей локуса, для которых разработан специальный тест.

## U

- Неопределенный
- Удалить
- Группа пользователей  
Группа пользователей определяет права или привилегии пользователя при работе с приложением. Каждый пользователь относится к одной группе пользователей.
- Управление пользователями

## V

- Проверка достоверности
- Просмотр
- Режим виртуального ввода  
Для каждого аллеля, для которого известна одна или несколько ложных реактивностей для определенного проблемного зонда или комбинации проблемных зондов, приложение предоставляет дополнительные виртуальные аллели. С этой целью в эти проблемные зонды в исходном шаблоне зонда вносятся изменения. Комбинации немодифицированных и виртуальных аллелей представлены в Результате виртуального ввода.

## W

- Проверка на слабость  
Когда у вас есть слабореагирующие зонд (ы) на полоске, приложение сгенерирует наиболее вероятный результат ввода, основанный на наиболее вероятной реактивности слабого зонда (ов). Кроме того, приложение будет переключать наиболее и наименее вероятные варианты реактивности слабого (-ых) зонда (-ов), генерируя, таким образом, разные результаты слабой проверки.
- Список работ  
Рабочий список (или пакет) группирует список тестов, которые должны быть интерпретированы приложением
- Управление рабочим списком

## X

## Y

## Z

## 3. РУКОВОДСТВО SYSDBA



ЧТОБЫ ОБЕСПЕЧИТЬ БЕЗОПАСНОСТЬ И КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ ДАННЫХ, НЕ ОСТАВЛЯЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ БЕЗ ПРИСМОТРА ПРИ ВХОДЕ В СИСТЕМУ!

### 3.1. СОЗДАНИЕ НОВОГО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



1. Нажмите **Администратор> Управление пользователем** в строке меню.  
→ Откроется диалоговое окно "Управление пользователями".
2. Нажмите **Пользователь > Новый** в строке меню.  
→ Откроется диалоговое окно "Создать нового пользователя".
3. Введите имя в ФИО поле.
4. Нажмите на поле **Имя пользователя** и введите уникальное имя пользователя.
5. Нажмите **Создать**  
→ Появится экран "Управление пользователями", и новый пользователь будет указан на вкладке вкладка "Пользователи".

Вы создали нового пользователя в Системной группе пользователей (по умолчанию). Для получения дополнительной информации о теме и ее возможностях см. Параграф «6.2 Создание новой записи пользователя, стр. 30».

### 3.2. НАСТРОЙКА ОТЧЕТОВ

Вы можете настроить отчеты, указав тип заголовка и поля.



1. Нажмите **Администратор>Системные настройки** в строке меню.  
→ Откроется диалоговое окно «Системные настройки».
2. Выберите **Отчетность** на вкладке "Дерево" слева.  
→ • Подробные сведения об «Отчетности» перечислены на вкладке «Подробности» справа.
3. Выберите **Тип заголовка** на вкладке «Подробности» справа.
4. Нажмите **<ENTER>**.  
→ • Откроется диалоговое окно с информацией о конфигурации. «Растровый логотип» выбран по умолчанию.
5. Щелкните стрелку раскрывающегося списка рядом с **Значение** и выберите тип заголовка, который будет отображаться во всех отчетах.
6. Нажмите **ОК**.



Если вы выбрали **Информация о лаборатории** в качестве типа заголовка вам нужно будет указать информацию. См. Параграф: «3.3 Специальная лабораторная информация, стр. 16».



Если вы хотите использовать собственный растровый логотип в качестве заголовка, укажите имя и путь:

1. Выберите **Растровый** логотип в **Детали**.
2. Нажмите **<ENTER>**.
3. Введите путь к вашему индивидуальному растровому логотипу в поле **Значение** поле.
4. Нажмите **ОК**.

Для получения дополнительной информации см. Параграф «16.1 Настройка заголовка отчета, стр. 64».



### 3.3. СПЕЦИАЛЬНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конкретную информацию о лаборатории можно добавить в заголовок отчета. Убедитесь, что в качестве типа заголовка выбрана информация о лаборатории. См. параграф: "3.2 Настройка отчетов, стр. 15".



1. Нажмите **Администратор > Системные настройки** в строке меню.  
→ Появится диалоговое окно «Системные настройки».
2. Выбрать Информация о лаборатории в «Дерево» вкладке слева.  
→ • Детали «Лабораторной информации» перечислены на вкладке «Подробности» справа.
3. Выберите элемент, который хотите отредактировать, в **Детали** вкладка справа.
4. Нажмите **<ENTER>**.  
→ Появится диалоговое окно информация о конфигурации выбранного элемента.
5. Введите свою информацию в Значение поле.
6. Нажмите **ОК**.  
→ Информация добавляется в столбец "Значение" вкладки "Сведения".

Для получения дополнительной информации см. пункт " 16.2 добавление конкретной лабораторной информации, р65"

### 3.4. КАЛИБРОВКА СКАНЕРА



ЕЖЕМЕСЯЧНАЯ КАЛИБРОВКА СКАНЕРА!



КАЛИБРОВКУ СКАНЕРА СЛЕДУЕТ ПОВТОРИТЬ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВОГО  
СКАНЕРА ТОГО ЖЕ ТИПА, ЧТО И ПРЕДЫДУЩИЙ СКАНЕР!



ВАША СЕРАЯ ШКАЛА ЧУВСТВИТЕЛЬНА К СВЕТУ. УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ДЕРЖИТЕ ЕГО  
В ЧИСТОМ, ТЕМНОМ МЕСТЕ!



Прежде чем пытаться откалибровать сканер, убедитесь, что он настроен.



1. Возьмите оригинальный шаблон для чтения.
2. Снимите белый защитный колпачок положения 1 на шаблоне для чтения.
3. Аккуратно выровняйте белую область серой шкалы с левой границей предварительно отпечатанной серой зоны на шаблоне считывания.
4. Прочно закрепите полоску по всей длине на клеевой линии.
5. Нажмите **Администратор > Сканер Mgt** в строке меню.  
→ Появляется окно "Управление сканером".
6. Нажмите **Сканер > Калибровка** в строке меню.  
→ Появляется окно "Калибровать сканер". Данные сканера настроенные параметры отображаются слева.

7. Выберите категорию теста.
8. Выберите шкалу серого, которую вы будете использовать для калибровки сканера.
9. Выберите шаблон.
10. Расположите шаблон считывания серым цветом лицевой стороной вниз в правом верхнем углу сканера в вертикальной ориентации.
11. Нажмите **Калибровка > Начало** в строке меню.  
 → *Настройки яркости, контрастности, гаммы и разрешения отображаются на слева. Справа показано изображение шкалы серого, а также кривая «Оптическая плотность для значения сканирования». Появится информационное сообщение с вопросом, хотите ли вы просмотреть отчет о калибровке.*  
Если вы хотите посмотреть отчет о калибровке:
12. Нажмите **Да**.  
 → *Представлен предварительный просмотр отчета о калибровке.*  
Если вы не хотите видеть отчет о калибровке:
13. Нажмите **Нет**.
14. Нажмите **Калибровка> Закрывать** в строке меню.  
 → • *Окно «Калибровка сканера» закрывается, и отображается окно «Управление сканером».*
15. Поместите шаблон для чтения со шкалой серого в чистое и темное место, например, в коричневый конверт, темную папку,...

Дополнительную информацию см. в пункте: "8 Управление сканером, р36".

### 3.5. УСТАНОВКА ПЛАГИНОВ

Эта опция позволяет (пере)устанавливать (обновлять) плагины.



1. Нажмите **Администратор > Установить Плагины** в строке меню.  
 → *Появляется окно "Добро пожаловать" мастера установки плагина.*
2. Нажмите **Дальше**.
3. Нажмите **Добавить Файлы**.  
 → *Откроется диалоговое окно "выбор файлов плагинов для установки". Отобразится содержимое папки приложения.*
4. Выберите плагин (dll-файл), который вы хотите установить.
5. Нажмите **Открыть**.  
 → *Открывается диалоговое окно "Выбор подключаемых файлов для установки". Содержимое выбранных вами файлов.*
6. Повторите шаги с 3 по 5, чтобы добавить другие плагины, которые вы хотите установить.
7. Нажмите **Дальше**.  
 → *Появится диалоговое окно "Шаг 2: анализ выбранных файлов", и приложение проверит, можно ли установить плагины:*  
 → : *Приложение проверяет, можно ли установить плагины.*  
 → : *Плагин можно установить.*  
 → : *Плагин не подлежит установке.*

Если плагин можно установить:

8. Нажмите **Установить**.

→ Появляется диалоговое окно "Шаг 3: Установка файлов". Установленные плагины отмечены галочкой.

9. Нажмите **Заккрыть**.

10. Закройте все программы и перезагрузите ваш компьютер

Если плагин не может быть установлен:

11. Нажмите **Назад**.

12. Выберите плагин, который не был установлен.

13. Нажмите **Удалить**.

14. Повторите процедуру, начиная с шага 3, если вы хотите установить другой плагин.

### 3.6. УДАЛЕНИЕ ПРОГРАММЫ



Убедитесь, что программа закрыта, когда вы хотите удалить приложение.

Для пользователей Windows XP:



1. Нажмите кнопку **«Пуск»** в Windows.

2. Нажмите **Настройки > Панель управления**.

→ Откроется диалоговое окно «Панель управления».

3. Дважды нажмите **Установка и удаление программ**.

→ Откроется диалоговое окно «Свойства: Установка и удаление программ».

4. Выберите приложение.

5. Нажмите кнопку **«Добавить / Удалить»**.

6. Следуйте инструкциям на экране.



Для пользователей Windows 7, 8 и 10:



7. Нажмите кнопку **«Пуск»** в Windows.

8. Нажмите **> Панель управления**.

→ Откроется диалоговое окно «Панель управления».

9. В разделе «Программы» щелкните **«Удалить программу»**.

10. Выберите приложение (щелкните правой кнопкой мыши).

11. Выберите **Удалить**.

12. Следуйте подсказкам на экране.

## 4. РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

### 4.1. ВОЙТИ КАК НОВЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ



ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТИ ДАННЫХ, НЕ ОСТАВЛЯЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ БЕЗ ПРИСМОТРА ПРИ ВХОДЕ В СИСТЕМУ!

#### 4.1.1. КОГДА ПРИЛОЖЕНИЕ НЕ ЗАПУСКАЕТСЯ



1. Дважды щелкните значок на рабочем столе.  
→ Откроется диалоговое окно «Вход»
2. Введите ваше имя для входа, назначенное системным администратором (SYSDBA) и / или пользователями группы администраторов.
3. Нажмите **ОК**.  
→ Откроется диалоговое окно "Изменить пароль", в котором отображаются Ваше имя и имя пользователя.
4. Введите пароль по своему выбору (мин. 5 символов) и подтвердите этот пароль.
5. Нажмите **ОК**.  
→ Появится главный экран с тестовым браузером. Ваше полное имя отображается в строке состояния.

#### 4.1.2. КОГДА ДРУГОЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ АВТОРИЗОВАН



1. Нажмите **Общие сведения > Пользователь > Сменить пользователя** в строке меню.  
→ Открывается диалог "Вход".
2. Введите имя пользователя, назначенное системным администратором (SYSDBA) и/или пользователями группы администраторов.
3. Нажмите **ОК**.  
→ Откроется диалоговое окно "Изменить пароль", в котором отображаются Ваше имя и имя пользователя.
4. Введите пароль по своему выбору (мин. 5 символов) и подтвердите этот пароль.
5. Нажмите **ОК**.  
→ Появляется главный экран с тестовым браузером. Ваше полное имя отображаемый в строке состояния.

Дополнительную информацию см. в пункте "5.1 Процедура запуска и входа в систему, стр. 22".

## 4.2. СОЗДАТЬ НОВЫЙ ТЕСТ

### 4.2.1. РУЧНОЙ ВВОД



1. Нажмите **Новый Тест> Ручной ввод** в строке меню.
2. Выберите тест по вашему выбору..  
→ *Открывается диалоговое окно "Ввести новый тест", курсор находится в поле "Зонд".*
3. Введите номер положительного зонда, видимого на полосе.
4. Нажмите **<ENTER>**.  
→ *Номер положительного зонда отображается в поле «Список зондов», а полоса окрашивается на полоске.*
5. Повторите шаги 3 и 4, пока не будут введены все положительные зонды.
6. Нажмите **ОК**.  
→ *Появляется главный экран, и тест отображается в списке тестового браузера.*

Теперь вы успешно создали новый тест. Дополнительную информацию см. в пункте "10 Тест: Ручной ввод, р41".

### 4.2.2. СКАНИРОВАНИЕ



ВСЕГДА ПРОВЕРЯЙТЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СКАНИРОВАНИЯ ВИЗУАЛЬНО!



УБЕДИТЕСЬ, ЧТО СКАНЕР БЫЛ ОТКАЛИБРОВАН В ТЕЧЕНИЕ ПОСЛЕДНЕГО МЕСЯЦА!



1. Возьмите оригинальный шаблон для чтения.
2. Снимите белую крышку скольжения из шаблона значение.
3. Тщательно выровняйте линию управления полосы с предварительно отпечатанной черной полосой выравнивания на шаблоне для чтения. Убедитесь, что полосы расположены горизонтально и в середине серой зоны предварительной печати.
4. Крепко закрепите ленту по всей длине на клеевой линии.
5. Повторяйте шаги со 2 по 4 до тех пор, пока все полосы не будут зафиксированы на шаблоне для чтения.
6. Дайте полоскам полностью высохнуть.
7. Нажмите **Новый Тест> Сканирование** в строке меню.
8. Выберите логический шаблон, который вы хотите использовать для нового теста.  
→ *Появляется окно "Создать новый лист". Отображается шаг 1.*
9. Нажмите **Дальше**.
10. Щелкните стрелку раскрывающегося списка и выберите логический шаблон, на котором вы хотите основать свой лист.
11. Нажмите **Завершить**.  
→ *Открывается окно "Редактор листов". Слева находится обзор со всеми установленными тестами и их соответствующими полосками. Справа - изображение листа, который Вы собираетесь создать.*

12. Убедитесь, что сканер был откалиброван за последний месяц. **ЕСЛИ НЕТ, СНАЧАЛА ОТКАЛИБРУЙТЕ СКАНЕР** (См. главу "8.2 Калибровка сканера, стр. 36").
13. Убедитесь, что все полосы на шаблоне для чтения полностью высохли.
14. Поместите шаблон чтения лицевой стороной вниз в верхнем правом углу сканера в портретной ориентации.
15. Закройте крышку сканера.
16. Нажмите **Страница> Сканировать > [Сканер]** в строке меню.  
→ Появляется окно "Параметры отчета".
17. Нажмите **ОК**.  
→ Отображается окно "Процесс сканирования", в котором отображаются различные этапы и ход их выполнения. (Появляется сообщение).
18. Нажмите **ОК**.

Теперь вы успешно создали новый тест. Дополнительную информацию см. в параграфе "13 Тест: Сканирование, р54".

## 5. ОБЩЕЕ

### 5.1. ПРОЦЕДУРА ЗАПУСКА И ВХОДА В СИСТЕМУ



ЧТОБЫ ОБЕСПЕЧИТЬ БЕЗОПАСНОСТЬ И КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ ДАННЫХ, НЕ УХОДИТЕ ИЗ ПРИЛОЖЕНИЯ РАБОТАЕТ БЕЗ ПРИСМОТРА, КОГДА ВЫ ВОШЛИ В СИСТЕМУ!

Запустить приложение различными способами:

1. Дважды щелкните **по иконке** на рабочем столе.
2. Дважды щелкните на exe-файле в проводнике **Windows**.
3. Нажмите кнопку **Пуск** Windows и выберите приложение из меню **Программы**.

После открытия приложения вам будет представлено диалоговое окно входа в систему.

#### 5.1.1. ПЕРВЫЙ ВХОД В СИСТЕМУ



Вы можете войти в систему только ПОСЛЕ того, как ваша пользовательская запись будет создана системным администратором (SYSDBA) и / или пользователями из группы администраторов. Для большего Для получения дополнительной информации см. Параграф: «6.2 Создание новой записи пользователя, стр. 30».



1. Введите ваше имя для входа, назначенное системным администратором (SYSDBA) и / или пользователями группы администраторов.
2. Нажмите **ОК**.  
→ Откроется диалоговое окно «Изменить пароль», в котором отображаются ваше имя и логин.
3. Введите пароль по вашему выбору (мин. 5 символов) и подтвердите его.
4. Нажмите **ОК**.  
→ Появится главный экран с тестовым браузером. Ваше полное имя отображается в строке состояния.

#### 5.1.2. ВОЙТИ КАК ИЗВЕСТНЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ



1. Введите свое имя для входа и пароль в диалоговом окне «Вход».
2. Нажмите **ОК**.  
→ Появится главный экран с тестовым браузером. Ваше полное имя отображается в строке состояния.

#### 5.1.3. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ ...



...когда библиотека Firebird не может быть найдена.

- Закройте сообщение об ошибке и вставьте компакт-диск с приложениями. Установить **сервер Firebird**.



...когда вы не можете открыть приложение из-за отсутствия MSI.DLL-файла.

- Перезагрузите ваш компьютер.



...когда в диалоговом окне "Вход" была введена неверная информация о входе в систему.

- Если вы входите в систему в первый раз, не вводите пароль в диалоговом окне входа! Удалите свой пароль и нажмите **ОК**. Откроется диалоговое окно изменения пароля, в котором Вы можете ввести (и подтвердить) **выбранный Вами пароль**.
- Или проверьте свое имя пользователя. Введите правильное имя пользователя и нажмите **ОК**.
- Или перепишите ваш пароль и нажмите **ОК**.

-  ...когда вы не хотите, чтобы приложение запоминало последнего пользователя, вошедшего в систему ("Диалог входа").
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Показывать имя пользователя для входа в систему**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".
-  ...когда вы хотите увеличить/уменьшить количество шансов, что пользователь, который уже известен приложению, должен ввести правильное имя пользователя и пароль в диалоговом окне "Логин".
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Входные данные**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".
-  ...когда вы хотите изменить минимальную длину пароля, который вам нужен для входа в систему.
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Минимальная длина пароля**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".
-  ...когда вы хотите изменить количество дней, когда ваш пароль действителен.
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Время жизни пароля**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".
-  ...когда вы хотите изменить количество новых паролей, которое вы должны выбрать до того, как текущий пароль может быть использован снова.
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Ограничение повторного использования пароля**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".
-  ...когда вы хотите изменить количество дней до того, как приложение напомнит вам об изменении пароля.
  - Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление пользователями > Уведомление об истечении срока действия пароля**. Дополнительную информацию см. в главе "7.1 Управление пользователями, стр. 33".

## 5.2. ВЫХОД



1. В строке меню нажмите **Общие > Выход**.  
→ Приложение закрывается, и появляется диалоговое окно "Вход".



## 5.3. ВЫБОР ЗАПИСЕЙ



ЗАПИСЬ НЕ ВЫБИРАЕТСЯ ПРОСТЫМ ЩЕЛЧКОМ ПО НЕЙ!



= активная запись.



= активная и выбранная запись.



= выбранная запись.

### 5.3.1. ВЫБРАТЬ ОДНУ ЗАПИСЬ В ТАБЛИЦЕ БАЗЫ ДАННЫХ:



1. Нажмите один раз на запись, которую вы хотите выбрать.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, а фон записи окрашивается.

2. Нажмите кнопку **<ПРОБЕЛ>**.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что запись выбрана. Фон записи по-прежнему цветной. Количество выбранных записей отображается в строке состояния: [x] выбрано.

### 5.3.2. ВЫБЕРИТЕ НЕСКОЛЬКО СЛЕДУЮЩИХ ЗАПИСЕЙ В ТАБЛИЦЕ БАЗЫ ДАННЫХ:



1. Нажмите один раз на первую запись списка, которую вы хотите выбрать.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, а фон записи окрашивается.

2. Нажмите кнопку **<ПРОБЕЛ>**.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что выбрана первая запись списка. Фон записи по-прежнему цветной.

3. Удерживайте **<SHIFT>** при нажатии на последнюю запись в списке, который вы хотите выбрать.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что выбрана последняя запись. отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что другие записи также выбраны. Фон всех выбранных записей окрашен. Количество выбранных записей отображается в строке состояния: [x] выбрано.

### 5.3.3. ВЫБРАТЬ НЕСКОЛЬКО ЗАПИСЕЙ В ТАБЛИЦЕ БАЗЫ ДАННЫХ:



1. Нажмите один раз на первую запись в списке, который вы хотите выбрать.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, а фон записи окрашивается.

2. Нажмите кнопку **<ПРОБЕЛ>**.

→ отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что выбрана первая запись списка. Фон записи по-прежнему цветной.

3. Удерживайте **<CTRL>** при щелчке по следующей записи, которую вы хотите выбрать.

-  отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что выбрана вторая запись.  отображается в первом столбце таблицы базы данных, чтобы указать, что первая запись также выбрана. Фон всех выбранных записей окрашен. Количество выбранных записей отображается в строке состояния: [x] выбрано.

4. Повторите шаг 3, Чтобы выбрать больше записей.

## 5.4. ИЗМЕНЕНИЕ ПОРЯДКА СТОЛБЦОВ

Изменение порядка столбцов в таблице базы данных:



1. Перетащите заголовок столбца, который вы хотите переместить, в новое положение.

→ Толстая линия указывает на новое положение столбца.

## 5.5. ОТОБРАЖЕНИЕ / СКРЫТИЕ СТОЛБЦОВ

Некоторые столбцы в таблице базы данных доступны, но не видны по умолчанию.

Отображение столбцов в таблице базы данных:



1. Щелкните правой кнопкой мыши заголовок столбца в таблице базы данных.  
→ Появится всплывающий список со всеми заголовками столбцов, которые могут быть отображены. Галочка указывает, виден ли столбец.
2. Щелкните заголовок столбца, который вы хотите отобразить.  
→ Столбец отображается в таблице базы данных.

Та же процедура может быть использована для скрытия столбцов.

## 5.6. СМЕНИТЬ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Пользователи могут легко переключаться во время выполнения.



1. Нажмите **Общие> Пользователь> Сменить пользователя** в строке меню.  
→ Откроется диалоговое окно «Вход».
2. Введите ваше имя для входа и пароль.
3. Нажмите **ОК**.  
→ Появится главный экран с тестовым браузером. Ваше полное имя отображается в строке состояния.



Пользователи также могут быть переключены, нажав на полное имя в строке состояния, после чего появится диалоговое окно входа в систему.

## 5.7. СМЕНИТЬ ПАРОЛЬ

Каждый пользователь может легко изменить свой пароль во время выполнения при условии соблюдения минимальной длины пароля и ограничений на повторное использование пароля. См. параграф "7.1 управление пользователями, р33".



1. В строке меню выберите **Общие > Пользователь > Изменить пароль**.  
→ Откроется диалоговое окно "Изменить пароль", в котором будут отображены ваше имя и логин.

2. Введите свой старый пароль.
3. Введите новый пароль и подтвердите его..
4. Нажмите **ОК**.  
→ *Снова появляется главный экран с тестовым браузером.*

## 5.8. СОРТИРОВАТЬ ПО

Эта функция позволяет сортировать все записи в обширном и персонализированном виде.



1. В строке меню нажмите **Браузер > Сортировать по**,  
или  
Нажмите кнопку **Сортировать по**  на панели инструментов **Браузера**.  
→ *Открывается окно "Сортировать по".*
2. Выберите поле, по которому вы хотите выполнить сортировку, в левом поле.
3. Нажмите кнопку **Добавить** . Правое поле можно удалить, выбрав соответствующее поле и нажав кнопку  **Удалить**.
4. Повторяйте шаги 3 и 4 до тех пор, пока не добавите все поля, по которым необходимо произвести сортировку.
5. Нажмите **Next**.
6. Если выбрано несколько полей, необходимо установить порядок сортировки. Выберите поле и нажмите на стрелки, чтобы изменить порядок.
7. Нажмите **Next**.
8. Выберите поле и установите направление сортировки, нажав кнопку **«По Возрастанию / Убыванию»**.
9. Нажмите **Finish**.  
→ *Таблица базы данных отсортирована в соответствии с введенными вами условиями.*

## 5.9. ПОИСК



1. Нажмите **Браузер> Поиск** в строке меню,  
или  
Нажмите **Поиск**  на **Панели** инструментов браузера.  
→ *Открывается диалоговое окно «Поиск».*
2. Выберите столбец, в котором вы хотите искать.
3. Введите текст или дату, которую хотите найти.
4. Нажмите **Поиск**.  
→ *В таблице базы данных выбирается первая запись, содержащая строку поиска, или появляется информационное сообщение о том, что соответствующие данные не найдены.*
5. Чтобы найти следующую запись, содержащую ту же строку поиска, нажмите кнопку **<F3>**.

## 5.10. УПРАВЛЕНИЕ ФИЛЬТРАМИ

Эта опция позволяет анализировать данные в таблице базы данных, то есть вы можете фильтровать таблицу базы данных, чтобы увидеть записи, соответствующие определенным условиям.

"Вложенное условие" группирует ряд критериев внутри другого условия. Все условия могут быть определены с помощью параметра "все" или "любой", указывающего, должны ли быть выполнены все критерии или только один из них.

### 5.10.1. СОЗДАЙТЕ НОВЫЙ ФИЛЬТР



1. Нажмите **Браузер > Фильтр > Фильтр Mgt** в строке меню.

or

Click **Filter Mgt**  in the **Browser** toolbar.

→ Откроется диалоговое окно «Управление фильтром HLA».

2. Нажмите **Фильтр > Новый** в строке меню.

или

Нажмите **Новый**  на панели инструментов **Фильтр Mgt**.

3. Введите имя нового фильтра в поле **Имя**.
4. Дополнительно: введите описание фильтра в поле **"Описание"**.
5. Нажмите красную кнопку **«Нажать здесь»** на вкладке «Определение».
6. Выберите **"Добавить новое условие"** или **"добавить новое вложенное условие"**.
7. Если вы хотите, чтобы записи соответствовали "любому" из следующих условий, Нажмите зеленую кнопку **"все"** и выберите **"любой"**.
8. Нажмите синий **[Заголовок столбца]**, определить столбец, для которого условие будет действительным.
9. Определите свое состояние, нажав зеленую **[формула]** и the синий **"..."**.
10. Нажмите красный **"o"** для добавления нового (вложенного) условия или для удаления текущего условия и повторите шаги с 6 по 9.
11. Нажмите **Фильтр > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  на панели инструментов **Фильтр Mgt**.  
→ Появится всплывающее сообщение, информирующее о том, что фильтр был сохранен в базе данных.
12. Нажмите **ОК**.
13. Нажмите **Фильтр > Закройте и Примените фильтр** в строке меню,  
или  
Нажмите **Применить фильтр**  на панели инструментов **Управление фильтрами**.  
→ Таблица базы данных фильтруется по выбранным условиям. Примененный фильтр упоминается в строке состояния.

### 5.10.2. ЗАГРУЗИТЕ СУЩЕСТВУЮЩИЙ ФИЛЬТР



1. Нажмите **Браузер > Фильтр > Фильтр Mgt** в строке меню,  
или

Нажмите **Фильтр Mgt**  на панели инструментов **Браузера**.

→ Откроется диалоговое окно «Управление HLAFilter».

2. Нажмите **Фильтр > Загрузить** в строке меню,

или

Нажмите **Загрузить**  на панели инструментов **Фильтре Mgt**.

→ Откроется диалоговое окно "загрузить HLA-фильтр". Перечислены все существующие фильтры.

3. Выберите правильный фильтр.
4. Нажмите **Загрузить Фильтр**.
5. Нажмите **Фильтр > Закройте и Примените Фильтр** в строке меню

или

Нажмите **Применить фильтр**  на панели инструментов **Filter Mgt**.

→ Таблица базы данных фильтруется по выбранным условиям.  
Примененный фильтр упоминается в строке состояния.

### 5.10.3. АКТИВАЦИЯ / ДЕАКТИВАЦИЯ ФИЛЬТРА

Фильтр, выбранный в данный момент в таблице базы данных, упоминается в строке состояния. Этот фильтр можно легко активировать или деактивировать:



1. Нажмите **Браузер > Фильтр > Применить Фильтр** в строке меню,

или

Нажмите **Применить Фильтр**  на панели инструментов **Браузера**.



Вы также можете выбрать и применить фильтр, нажав правой кнопкой мыши кнопку фильтр: [имя] в строке состояния.

## 6. РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



Вы можете найти Управление пользователями в меню администратора. Однако этот пункт меню отображается только системному администратору (SYSDBA) и / или пользователям группы администраторов.



1. Нажмите **Администратор > Пользователь Mgt** в стоке меню, или

Нажмите **Пользователь Mgt** на панели инструментов **Настройки Системы**.

→ Откроется диалоговое окно **"Управление пользователями"**.

### 6.1. ГРУППА ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Приложение предоставляет четыре группы пользователей, каждая из которых имеет свой собственный набор привилегий, то есть действия, которые группа пользователей может или не может выполнять. Одна из этих групп пользователей, группа системных администраторов, может состоять только из одного уникального пользователя. Этот пользователь имеет все права.

| Привилегия                       | Системный Админ | Группа Админ | Пользователь Группы | Системный пользователь Группы |
|----------------------------------|-----------------|--------------|---------------------|-------------------------------|
| Создать новый тест               | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Просмотр собственного теста      | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Просмотр других тестов           | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать собственный тест   | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Редактирование других тестов     | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Удалить собственный тест         | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Удалить другие тесты             | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Ведение пациентов                | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Создать Пациента                 | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать Пациента           | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Удалить Пациента                 | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Руководство Врача                | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Создать Врача                    | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать Врача              | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Удалить Врача                    | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Системные настройки              | ✓               | ✗            | ✗                   | ✗                             |
| Управление Пользователями        | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Просмотреть тестовый отчет       | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Просмотр таблицы набора текста   | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Управление фильтром              | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать собственный фильтр | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать другой фильтр      | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Управление логическими шаблонами | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Управление Сканером              | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Конфигурация сканера             | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Калибровка сканера               | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Удалить сканер                   | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Установить сканер по умолчанию   | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Управление списками              | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Создать новый список             | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Просмотр собственных списков     | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Просмотр других списков          | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать собственные списки | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Редактировать других списков     | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |

| Привилегия                                                      | Системный Админ | Группа Админ | Пользователь Группы | Системный пользователь Группы |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------|--------------|---------------------|-------------------------------|
| Удалить собственные списки                                      | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Удалить другие списки                                           | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Отключить собственные списки                                    | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Отключить другие списки                                         | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Прикрепить к собственному тесту                                 | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Присоединить к другому тесту                                    | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Прикрепить к собственному списку                                | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Прикрепить к другим спискам                                     | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Отменить полосу на собственном списке                           | ✓               | ✓            | ✓                   | ✗                             |
| Установить собственный тест для повторного сканирования маркера | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Установить повторное сканирование маркеров других тестов        | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Сканировать собственный тест                                    | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Отсканировать список, созданный другими                         | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Управление журналом аудита                                      | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Поиск                                                           | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Сортировать по                                                  | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Включить/выключить таблицы ввода данных                         | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Установка плагинов                                              | ✓               | ✗            | ✗                   | ✗                             |
| Управление подписчиками                                         | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Отправить собственные тесты                                     | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Отправить другие тесты                                          | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Управление обзором тестов                                       | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Обзор представленных Вами тестов                                | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Обзорные тесты, представленные другим                           | ✓               | ✗            | ✗                   | ✗                             |
| Переназначить собственную подпись                               | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Переназначить другую подпись                                    | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Просмотреть все тесты                                           | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Посмотреть подписи всех                                         | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Управление списком работ                                        | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Создавайте новые списки работ                                   | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Удалить собственные списки работ                                | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Удалить другие списки работ                                     | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Отключить собственные списки работ                              | ✓               | ✓            | ✓                   | ✓                             |
| Отключить другие рабочие списки                                 | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Импортировать списки работ                                      | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |
| Экспорт списков работ                                           | ✓               | ✓            | ✗                   | ✗                             |

## 6.2. СОЗДАТЬ НОВУЮ ЗАПИСЬ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



1. Нажмите **Пользователь > Создать** в строке меню, или

Нажмите **Создать**  на панели инструментов **Пользователя Mgt.**

→ Откроется диалоговое окно "Создать нового пользователя".

- **Полное имя**  
Вы должны ввести полное имя на ваш выбор.
- **Логин**  
Вы должны ввести уникальное имя пользователя.
- **Включено**  
Если запись пользователя отключена, он не сможет войти в систему.

- Язык  
В этой версии приложения предусмотрен только английский язык.
- Группа пользователей  
Вы можете выбрать одну из трех групп пользователей, предоставляемых приложением: группа администраторов, группа привилегированных пользователей и группа системных пользователей. Для получения дополнительной информации см. вышеприведенную главу.

### 6.3. РЕДАКТИРОВАНИЕ ЗАПИСИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



Запись системного администратора (SYSDBA) не может быть отредактирована.



1. Выберите запись пользователя, которую вы хотите отредактировать, на вкладке **Пользователи**.
2. Нажмите **Пользователь > Изменить** в строке меню, или  
Нажмите **Изменить** на панели инструментов **Пользователь Mgt.** или  
Нажмите **<ENTER>**, или  
Дважды нажмите запись пользователя на вкладке **Пользователи**.  
→ Откроется диалоговое окно "Изменить параметры пользователя".
3. Внесите изменения в запись пользователя.
4. Нажмите **ОК**.

Вы можете внести изменения во все поля в диалоговом окне "**Редактирование параметров пользователя**" при условии, что имя пользователя останется уникальным.

Если вы забыли свой пароль, системный администратор (SYSDBA) и/или пользователи группы администраторов могут очистить ваш пароль, нажав кнопку "**Очистить пароль**". Вы можете войти в приложение, следуя той же процедуре, что и новый пользователь. См. параграф "5.1.1, Первый вход, стр. 22".

### 6.4. УДАЛИТЬ ЗАПИСЬ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



Запись системного администратора (SYSDBA) не может быть удалена.

Удаление записи пользователя удалит запись из базы данных. Однако, если данный пользователь уже вошел в приложение, запись будет отключена, а не удалена, чтобы обеспечить прослеживаемость. Информационное сообщение проинформирует пользователя об отключении.



1. Выберите запись пользователя на вкладке **Пользователи**.
2. Нажмите **Пользователь > Удалить** в строке меню, или  
Нажмите **Удалить** на панели инструментов **Пользователь Mgt.**  
→ Появится всплывающее окно с подтверждением.
3. Нажмите **Да**.



→ (Появляется информационное сообщение, в котором пользователь информируется об отключении).

4. Нажмите **ОК**).

→ Запись пользователя удаляется с вкладки "Пользователи" или пользователь отключается, а в колонке "Включен" записывается "Нет".

## 6.5. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО СДЕЛАТЬ...



...если вы забудете свой пароль.

- Системный администратор (SYSDBA) и/или пользователи группы администраторов всегда могут очистить ваш пароль. Дополнительную информацию см. в главе "6.3 Редактирование записи пользователя, р31".

## 7. ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ



Только системный администратор (SYSDBA) имеет права изменять системные настройки, и поэтому этот пункт меню будет представлен только системному администратору (SYSDBA).

### 7.1. РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ



1. Нажмите **Администратор > Системные Настройки** в строке меню, или

Нажмите **Системные Настройки**  на панели **Инструментов Настройки** системы.

→ Откроется диалоговое окно "Системные настройки".

2. Выберите **Управление Пользователями** на вкладке дерева.  
→ Детали "Управления пользователями" перечислены на закладке "Детали".
3. Выберите элемент, который необходимо изменить на вкладке "Детали".
4. Нажмите **<ENTER>**,

или

Нажмите **Системные Настройки > Редактирование** в строке меню,

или

Нажмите **Редактирование**  на панели инструментов "Системные настройки",

или

Double click the item you want to change.

→ Дважды нажмите элемент, который вы хотите изменить.

5. Введите свои изменения в поле **Значение**.
6. Нажмите **ОК**.

- Повторные попытки входа  
Эта функция описывает количество шансов, которые пользователь, уже известный приложению, должен ввести правильное имя пользователя и пароль в диалоговом окне входа. Если вы не введете правильное имя пользователя и / или пароль, то об этом будет сообщено предупреждающее сообщение. Когда будет достигнуто заданное количество записей для входа в систему, приложение полностью закроется.
- Показать Последнее Имя Пользователя  
Предусмотрена опция, должен ли диалог входа в систему запоминать последнего пользователя, использовавшего приложение. Если он будет принят, то имя Входа этого пользователя уже будет указано в диалоговом окне входа. Если нет, то поле имя входа будет очищаться каждый раз при отображении диалогового окна входа.
- Минимальная длина пароля  
Минимальная требуемая длина пароля может быть изменена. Если новый пароль слишком короткий, на экране появится сообщение. Если минимальная длина пароля увеличилась, то при попытке входа в систему Вы получите сообщение с текущими настройками.
- Пароль Срок действия  
Эта функция описывает количество дней, в течение которых ваш пароль будет действителен, прежде чем его придется менять.
- Ограничение повторного использования пароля  
Эта функция описывает, сколько новых паролей нужно выбрать, прежде чем можно будет снова использовать текущий пароль. Если вы попытаетесь ввести ранее использовавшийся пароль до того, как ограничение повторного использования будет выполнено, появится предупреждающее сообщение.

- Уведомление об истечении срока действия пароля  
Эта функция напоминает вам, что срок действия вашего пароля истечет через определенное количество дней. В день истечения срока появится еще одно сообщение, в котором приложение информирует вас о том, что ваш пароль необходимо изменить. После нажатия кнопки «ОК» появится диалоговое окно «Смена пароля».

## 7.2. АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПРОСМОТР ТЕСТОВ

-  1. Нажмите **Админ > Системные Настройки** в строке меню, или  
Нажмите **Системные Настройки**  на панели инструментов **Системные Настройки**.
- 2. Выберите **Автоматический Просмотр** теста на вкладке Дерево.
- 3. Для изменения настроек выполните действия, описанные в разделе "7.1 Управление пользователями".
- Введите имя пользователя  
Предусмотрена возможность ввода имени пользователя при подписании теста. Если установлено значение **"Да"**, имя пользователя должно вводиться в диалоговом окне каждый раз, когда пользователь хочет подписать тест.

## 7.3. УПРАВЛЕНИЕ СПИСОМ РАБОТ

-  1. Нажмите **Админ > Системные Настройки** в строке меню, или  
Нажмите **Системные Настройки**  на панели инструментов **Системные Настройки**.
- 2. На вкладке **"Дерево"** выберите пункт **"Управление рабочими списками"**.
- 3. Для изменения настроек выполните действия, описанные в разделе "7.1 Управление пользователями".
- Удалить после импорта  
Предусмотрена опция автоматического удаления файла рабочего списка после успешного импорта.
- Путь импорта по умолчанию  
Позволяет вам выбрать месторасположение файлов рабочего списка по умолчанию в вашей системе.
- Путь экспорта по умолчанию  
Позволяет выбрать расположение экспортируемых файлов по умолчанию.

## 7.4. УПРАВЛЕНИЕ КОДОМ LiPA HLA ALLELE

-  1. Нажмите **Админ> Системные Настройки** в строке меню, или  
Нажмите **Системные Настройки**  на панели инструментов **Системные Настройки**.
- 2. Выберите **LiPA на HLA** аллелей код управления на вкладке Дерево.
- 3. Действуйте, как в "7.1 руководство пользователя", чтобы изменить параметр.
- Активные Списки Кодов  
Если в управлении кодами аллелей установлен список NMDP, то этот параметр определяет, будут ли коды использоваться для ввода HLA. Настройка по умолчанию = НЕТ

- Экспортные коды NMDP  
Если в управлении кодом аллелей установлен список NMDP и тест интерпретируется с "Активными" списками кодов, то этот параметр определяет, включены ли коды в экспорт теста. Настройка по умолчанию = НЕТ
- Обновление кодов NMDP  
Определяет, как будут обновляться коды NMDP. Создает отчет о разнице в обновлении: Да (длительное время обновления). Нет (Быстрая замена старого списка без отчета). Настройка по умолчанию = НЕТ



## 7.5. МОДУЛЬ БИБЛИОТЕКИ LiPA HLA



1. Нажмите **Админ > Системные Настройки** в строке меню, или  
Нажмите **Системные Настройки**  на панели инструментов **Системные Настройки**.
  2. На вкладке **"Дерево"** выберите модуль библиотеки **LiPA HLA**.
  3. Для изменения настроек выполните действия, описанные в разделе "7.1 Управление пользователями".
- Автоматический просмотр теста  
Предусматривает возможность утверждения отчетов в рамках заявки. Если установлено значение **"Нет"**, то возможности пересмотра результатов испытаний удаляются из заявки. Изменение этого параметра требует перезапуска приложения, прежде чем оно вступит в силу.
  - Формат импортного файла  
Позволяет определить формат файла, который будет использоваться при импорте.
  - Формат экспортного файла  
Позволяет определить формат файла, который будет использоваться при экспорте.
  - Общий экспорт  
Позволяет определить, нужно ли экспортировать общее указание аллелей.

## 8. УПРАВЛЕНИЕ СКАНЕРОМ



1. Нажмите **Админ> Сканер Mgt** в строке меню, или  
Нажмите **Сканер Mgt**  на панели инструментов **"Настройка системы"**.  
→ Открывается окно **"Управление Сканером"**.



Убедитесь, что сканер настроен, прежде чем пытаться откалибровать его.

### 8.1. КОНФИГУРАЦИЯ СКАНЕРА



ИСПОЛЬЗУЙТЕ ТОЛЬКО СОВМЕСТИМЫЕ СКАНЕРЫ, ОПИСАННЫЕ В БУКЛЕТЕ CD-ROM!



1. Нажмите **Сканер > Настроить** в строке меню, или  
Нажмите **Настроить**  в панели инструментов **Сканер Mgt**.  
→ Появляется мастер **"Настроить сканер"**.
2. Нажмите **"Далее"**.
3. Выберите сканер, который вы будете использовать.
4. Нажмите **"Далее"**.
5. Нажмите **Заккрыть**.  
→ Конфигурация сканера завершена и на экране появляется окно **"Управление сканером"**.

### 8.2. КАЛИБРОВКА СКАНЕРА



ОТКАЛИБРУЙТЕ ВАШ СКАНЕР ЕЖЕМЕСЯЧНО!



КАЛИБРОВКА СКАНЕРА ДОЛЖНА БЫТЬ ПОВТОРЕНА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВОГО СКАНЕРА ТОГО ЖЕ ТИПА, ЧТО И ПРЕДЫДУЩИЙ!



ВАША ШКАЛА ЯРКОСТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНА К СВЕТУ. УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ХРАНИТЕ ЕЕ В ТЕМНОТЕ!



ДЕРЖИТЕ ВАШУ ШКАЛУ ЯРКОСТИ ЧИСТОЙ И НЕПОВРЕЖДЕННОЙ!



НЕ УДАЛЯЙТЕ ШКАЛУ ЯРКОСТИ, КАК ТОЛЬКО ОНА ПРИКРЕПЛЕНА К ШАБЛОНУ ДЛЯ ЧТЕНИЯ!



ИСПОЛЬЗУЙТЕ ТОЛЬКО НАСТРОЕННЫЙ И ОТКАЛИБРОВАННЫЙ СКАНЕР!



1. Возьмите оригинальный шаблон для чтения.
  2. Снимите белый защитный колпачок положения 1 на шаблоне для чтения.
  3. Аккуратно выровняйте белую область серой шкалы с левой границей предварительно отпечатанной серой зоны на шаблоне считывания.
  4. Крепко закрепите ленту по всей длине на клеевой линии.
  5. Нажмите **Сканер > Калибровка** в строке меню,  
или
  6. Нажмите **Калибровка**  на панели инструментов управления **Сканером**.  
→ Появится окно "Калибровка Сканера". Данные настроенного сканера отображаются слева.
  7. Расположите шаблон считывания серым цветом лицевой стороной вниз в правом верхнем углу сканера в вертикальной ориентации.
  8. Нажмите **Калибровка > Пуск** в строке меню,  
или  
Нажмите **Пуск**  на панели инструментов **Калибровка**.  
→ Настройки яркости, контрастности, гаммы и разрешения отображаются слева. Справа отображается изображение шкалы серого, а также кривая "Оптическая плотность сканирования". Появляется информационное сообщение о необходимости просмотра отчета о калибровке.
- Если вы хотите посмотреть отчет о калибровке:
8. Нажмите **Да**.  
→ Представлен предварительный просмотр отчета о калибровке в печатном виде..
- Если вы не хотите видеть отчет о калибровке:
9. Нажмите **Нет**.
  10. Нажмите **Калибровка > Закрыть** в строке меню,  
или  
Нажмите **<ESC>**.  
→ Закрывается окно "Калибровка сканера" и отображается окно "Управление сканером".
  11. Храните шаблон для чтения с серой шкалой в чистом и темном месте, например, в коричневом конверте, темной папке,...

### 8.3. ЗАЩИТА КАЛИБРОВКИ

Эта функция проверяет необходимость повторной калибровки сканера. Когда вы добавляете шкалу серого на лист (см. главу "12.1.5 Добавить шкалу серого, р49") и начинаете процедуру сканирования, приложение проверяет, соответствует ли кривая, полученная с этой шкалой серого, исходной калибровочной кривой, в соответствии с техническими характеристиками. Если кривые отличаются слишком сильно, приложение посоветует Вам произвести повторную калибровку сканера.

## 8.4. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...когда сканер не настроен.

- Настройте сканер в соответствии с процедурой, описанной в разделе "8.1 Конфигурация сканера, стр. 36".



...когда вы хотите изменить количество дней до истечения срока калибровки.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки спецификации в меню **Админ > Системные настройки > Калибровка > Срок службы калибровки**.

## 9. ТЕСТ: ОБЩЕЕ

### 9.1. СТРАНИЦА

Нажмите соответствующую кнопку  или нажав **<F3>**, вы сможете найти идентификатор образца, пациент, врач и т. д., который уже существует в базе данных, при вводе нового теста.

#### 9.1.1. ПОИСК ЗАПИСИ ПАЦИЕНТА ИЛИ ВРАЧА

Вы можете искать запись пациента или врача по имени или коду. Если вы хотите выполнить поиск по имени, вы можете ввести (часть) имени. После нажатия **<ENTER>** будет выделена первая запись, содержащая строку поиска.



Если запись пациента или врача отключена, то его/ее запись не будет отображаться в списке просмотра.

При нажатии кнопки **Выбрать** в соответствующем поле ввода вводится код выбранного пациента.

#### 9.1.2. СОЗДАТЬ НОВУЮ ЗАПИСЬ О ПАЦИЕНТЕ ИЛИ ВРАЧЕ



1. Нажмите "Обзор пациента" или "Обзор врача". . 
2. Нажмите **Создать**.  
→ Откроется диалоговое окно "создать нового пациента/врача". Приложение уже сгенерировало уникальный код.
3. Необязательно: введите имя пациента/врача и/или комментарий.
4. Вы можете изменить сгенерированный код пациента при условии ввода уникального кода.
5. Нажмите **Создать**.  
→ Новая запись пациента/врача будет выделена в списке просмотра.

См. также пункты: 18 Ведение пациентов, стр. 72  
19 Управление врачами, стр. 75

## 9.2. АВТОМАТИЧЕСКОЕ ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПАЦИЕНТУ

Когда вы вводите идентификатор образца, который использовался ранее, приложение может предложить того же пациента, который был ранее связан с этим идентификатором образца.



Только системный администратор (SYSDBA) имеет право изменять системные настройки, поэтому этот пункт меню будет представлен только системному администратору (SYSDBA).

Чтобы изменить эту настройку по умолчанию:



1. Нажмите **Админ > Системные Настройки** в строке меню,  
или  
Нажмите **Системные Настройки**  на панели инструментов **Настройка системы**.  
→ Открывается диалог "Системные настройки".
2. Выбрать Управление тестированием в Дерево таб.  
→ Детали "Управления тестированием" перечислены во вкладке "Детали".



3. На вкладке "**Детали**" выберите пункт "**Автоматическое предложение пациента**".
4. Нажмите **<ENTER>**,  
или  
Нажмите **Системные Настройки > Изменить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Изменить**  на панели инструментов "**Системные Настройки**".
5. Нажмите **Да**.
6. Нажмите **ОК**.

→ При вводе нового теста в заявке будет предложен пациент.

### 9.3. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...если вы хотите, чтобы идентификатор образца был чувствителен к регистру.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление тестированием > Идентификатор образца**, чувствительного к регистру (Case Sensitive Sample ID).



...когда вы хотите, чтобы имя пациента/врача было визуализировано вместо кода пациента/врача.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление тестированием > Использовать код пациента и врача**.

## 10. ПРОВЕРКА: РУЧНОЙ ВВОД



1. Нажмите **Новый тест > Ввод вручную** в строке меню.
  2. Выберите тест по вашему выбору.  
→ Открывается диалог "Ввести новый тест", курсор ждет в поле "Зонд".
  3. Введите номер положительного зонда, видимого на полосе.
  4. Нажмите **<ENTER>**.  
→ В поле "Список зондов" появляется номер положительного зонда, а полоса окрашивается в цвет полосы.
  5. Повторите шаги 3 и 4, пока не будут введены все положительные зонды.
  6. Необязательно: заполните следующие поля: **Идентификатор образца, Пациент, Врач, Рабочий список, Комментарий, Дата анализа, Номер партии, Идентификатор листа и Положение листа**.
  7. Нажмите **ОК**.  
→ Появляется главный экран, и тест отображается в списке тестового браузера.
- Идентификатор образца  
Приложение по умолчанию вводит образец ID формата "ууууmmdd\_0000". Это означает, что поле Sample ID никогда не останется пустым.
  - Пациент  
Вы можете выбрать существующего пациента или создать нового с помощью кнопки "Обзор". 
  - Список работ  
Чтобы упростить экспорт результатов после интерпретации, можно прикрепить полоски к списку работ.
  - Врач  
Вы можете выбрать существующего врача или создать нового с помощью кнопки "Обзор". 
  - Комментарий  
По желанию вы можете добавить конкретный комментарий к этому тесту.
  - Полоса  
Положительную полосу можно ввести, щелкнув соответствующую полосу на изображении полосы.
  - Дата анализа  
Вы можете ввести дату пробирования, нажав на стрелку в раскрывающемся списке и выбрав ее.
  - Номер партии  
Приложение по умолчанию вводит номер партии, который использовался последним для данного конкретного типа полосы. В других случаях значение по умолчанию не указывается и вводится "не поставляется".
  - Идентификатор листа  
Вы можете назначить полосу существующему листу или создать новый лист с помощью кнопки Обзор .  
В случае использования нескольких полос идентификатор листа, выбранный для полосы 1, будет автоматически скопирован в идентификатор листа полосы 2. Если этот идентификатор листа полосы 2 не совпадает, вы можете изменить его, не влияя на идентификатор листа полосы 1.
  - Положение листа  
При выборе идентификатора листа приложение автоматически генерирует самую низкую доступную позицию листа. Вы всегда можете изменить эту сгенерированную позицию листа на любую по вашему выбору, пока эта позиция все еще пуста.

- Зонд  
Положительный диапазон можно ввести, введя соответствующий номер диапазона и нажав кнопку **<ENTER>**.
- Список зондов  
В данном поле перечислены все введенные номера диапазонов. Положительные диапазоны можно также ввести путем ввода соответствующих номеров диапазонов, разделенных символом, и нажатия кнопки **<ENTER>**.
- Непрерывный режим  
Когда эта опция выбрана, после **Завершения теста и Нажатия кнопки "OK"** будет непрерывно показываться диалоговое окно нового теста, пока опция не будет снова выключена.

## 10.1. ПОИСК

Нажатие соответствующих кнопок обзора  или нажатие кнопки **<F3>** поможет вам найти идентификатор образца, пациента, врача, рабочий список, номер партии, дату анализа или идентификатор листа, который уже существует в базе данных. Для получения дополнительной информации см. пункт "5.9 Поиск, р26".

## 10.2. КАК ВОЙТИ В ПОЛОЖИТЕЛЬНУЮ ГРУППУ

Вы можете войти в положительную группу тремя различными способами:

1. Нажмите соответствующую полосу на изображении полосы.
2. Введите номер положительной полосы в поле **Зонд** и нажмите кнопку **<ENTER>**.
3. Введите число положительных полос в **Списке Зондов**, разделенных запятыми, и нажмите кнопку **<ENTER>**.  
→ В результате положительная полоса будет окрашена на полосе, а номер зонда будет добавлен в список зондов.

## 10.3. КАК ИСПРАВИТЬ ОШИБКУ

Если вы вошли не в ту группу как положительный:

1. Нажмите на положительную полосу на полосе еще раз.
2. Введите номер неправильной положительной полосы в поле **Зонд** и нажмите кнопку **<ENTER>**.
3. Удалить номер неправильной положительной полосы в списке зондов.
4. Щелкните правой кнопкой мыши и выберите **Отменить изменения для параметра [Тип полосы]**.  
→ В результате цветная полоса исчезнет с изображения полосы, как и номер зонда в списке зондов.

## 10.4. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...если необходимо, чтобы вместо кода пациента/врача отображалось имя пациента/врача.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Управление тестированием > Использовать код пациента и врача**.

## 11. ЛОГИЧЕСКОЕ УПРАВЛЕНИЕ ШАБЛОНАМИ

Менеджер логических шаблонов поможет вам создать заранее определенный электронный шаблон сканирования, который является точной копией вашего физического шаблона чтения.



1. Нажмите **Админи> Логический шаблон Mgt** в строке меню, или

нажмите **Логический шаблон Mgt**  на панели инструментов Администрирование.

→ Открывается окно "Управление логическими шаблонами".  
Перечисляются все доступные шаблоны.

### 11.1. СОЗДАТЬ НОВЫЙ ЛОГИЧЕСКИЙ ШАБЛОН



1. Нажмите **Логический шаблон > Новый** в строке меню, или

Нажмите **Создать**  на панели инструментов **Логический шаблон Mgt**.

→ Появится мастер "создать новый логический шаблон".  
Отобразится Шаг 1.

#### 11.1.1. НА ОСНОВЕ ПУСТОГО ШАБЛОНА



1. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 2-й шаг мастера.
2. Выберите категорию испытания.
3. Введите имя для вашего нового логического шаблона.
4. Необязательно: введите комментарий.
5. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 3-й шаг мастера.
6. Выберите шаблон физического чтения, на котором вы хотите основывать свой новый логический шаблон.
7. Нажмите **Завершить**.  
→ Появляется окно "Редактор логических шаблонов". Слева находится обзор со всеми установленными тестами и их соответствующими полосками. Справа - изображение логического шаблона, который Вы собираетесь создать.

#### 11.1.2. НА ОСНОВЕ СУЩЕСТВУЮЩЕГО ШАБЛОНА



1. Нажмите маркер рядом с надписью на основе существующего шаблона.
2. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отобразится Шаг 2 мастера.

3. Выберите категорию теста.
4. Введите имя для вашего нового логического шаблона.
5. Необязательно: введите комментарий.
6. Нажмите **"Далее"**.
7. Выберите шаблон физического чтения, на котором вы хотите основывать свой новый логический шаблон.
8. Нажмите **"Далее"**.  
→ Приложение спрашивает, хотите ли вы скопировать информацию о связи между полосами исходного шаблона в ваш новый логический шаблон. Это относится только к тем тестам, для которых требуется более 1 полосы.
9. Нажмите **Да**, если вы хотите скопировать прикрепленную информацию, или  
Нажмите **Нет**, если вы хотите скопировать типы полос в новый шаблон; любая информация о вложении между полосами будет потеряна.
10. Нажмите **Завершить**.  
→ Появляется окно **"Редактор логических шаблонов"**. Слева находится обзор со всеми установленными тестами и их соответствующими полосками. Справа - изображение логического шаблона, который Вы собираетесь создать.

### 11.1.3. ДОБАВИТЬ ПОЛОСКУ В РЕДАКТОР ЛОГИЧЕСКИХ ШАБЛОНОВ



1. Выберите полосу в **Обзоре испытаний/Полосок** слева.
2. Выберите позицию в новом логическом шаблоне справа.
3. Нажмите   
→ Полоса добавляется в ваш новый логический шаблон в позиции, которую вы выбрали.
4. Повторяйте шаги с 1 по 3 до тех пор, пока не добавите все необходимые полосы.
5. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню, или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.



Вы можете добавить все полосы теста сразу, просто выбрав название теста в **Обзоре теста/Полоски** и нажав кнопку .

### 11.1.4. ДОБАВИТЬ ШКАЛУ СЕРОГО



Вы можете добавить только одну шкалу серого на логический шаблон.



1. Выберите положение шкалы серого в новом логическом шаблоне справа.
2. Нажмите правой кнопкой мыши.
3. Нажмите **Добавить > Шкала серого**.  
→ Откроется окно **"Поиск шкалы серого"**, в котором перечислены все доступные шкалы серого.
4. Выберите шкалу серого, которую вы хотите добавить.
5. Нажмите **Выбрать**.

→ Серая шкала добавляется к вашему новому логическому шаблону справа от окна "Редактор логических шаблонов".

#### 11.1.5. ВЫБИРАТЬ НЕСКОЛЬКО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ПОЛОС



1. Нажмите первую полосу в новом логическом шаблоне справа.
2. Удерживайте **<SHIFT>**, нажимая последнюю полосу, которую вы хотите выбрать в вашем новом логическом шаблоне справа.  
→ Все полосы, начиная с первой и заканчивая последней, выбраны.

#### 11.1.6. УДАЛИТЬ ПОЛОСУ



1. Выберите полосу (полосы) в новом логическом шаблоне справа.
2. Нажмите   
→ Полоса удаляется из этой конкретной позиции на вашем новом логическом шаблоне.
3. Повторяйте шаги с 1 по 2 до тех пор, пока не удалите все необходимые полосы.
4. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.

#### 11.1.7. ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОЛОСЫ



1. Выберите полосы в новом логическом шаблоне справа.
2. Нажмите  чтобы переместить полосу в положение 20.
3. Нажмите  чтобы переместить полосу на одну позицию вниз.
4. Нажмите  чтобы переместить полосу на одну позицию вверх.
5. Нажмите  чтобы переместить полосу в положение  
→ Полоса перемещается в новое положение на вашем новом логическом шаблоне.
6. Повторяйте шаги с 1 по 5 до тех пор, пока не переставите все необходимые полосы.
7. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.

#### 11.1.8. ЗАПОЛНИТЬ ЛОГИЧЕСКИЙ ШАБЛОН



1. Выберите полосу или тест в **Обзоре испытаний/Полосок** слева.
2. Нажмите **Логический шаблон > Заполнить** в строке меню,  
или  
Нажмите кнопку **Заполнить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.  
→ Все пустые позиции в Вашем новом логическом шаблоне заполняются полосой(ами), выбранной(ыми) Вами в "Обзоре тест/Полоска" слева.

3. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню, или

Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.

#### 11.1.9. ПРИКРИПИТЬ

Вы можете связать одну полосу с другой.



1. Выберите полосу в новом логическом шаблоне справа.
2. Нажмите правую кнопку мыши.
3. Выберите **"Прикрепить к"**  
→ Появляется диалоговое окно "Выбор теста для прикрепления". Появляется список всех тестов, к которым вы можете прикрепить полосу.
4. Выберите тест, к которому вы хотите прикрепить полосу.
5. Нажмите **Выбрать**.  
→ Обе полосы связаны друг с другом и имеют один и тот же виртуальный идентификатор образца.
6. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню, или

Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.

#### 11.1.10. ОТДЕЛИТЬ



1. Выберите полосу в вашем новом логическом шаблоне справа.
2. Нажмите правой кнопкой мыши.
3. Выберите **"Отсоединиться"**.  
→ Полоска отсоединяется и имеет красную пулю в "Редакторе логических шаблонов".

### 11.2. РЕДАКТИРОВАНИЕ ЛОГИЧЕСКОГО ШАБЛОНА



Вы не можете редактировать системные шаблоны.



1. Выберите логический шаблон, который вы хотите отредактировать, в окне **"Управление логическим шаблоном"**.
2. Нажмите **Логический шаблон > Редактировать** в строке меню, или  
Нажмите **Изменить**  на панели инструментов **Логический шаблон Mgt.**  
→ Откроется окно "Редактор логических шаблонов", в котором будет отображен логический шаблон.

3. Внесите изменения в логический шаблон.
4. Нажмите **Логический шаблон > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Редактора логических шаблонов**.
5. Нажмите **Логический шаблон > Закрывать** в строке меню,  
или  
Нажмите **<ESC>**.  
→ Появляется окно "Управление логическими шаблонами". Логический шаблон, который Вы только что отредактировали, все еще выбран.

### 11.3. УДАЛИТЬ ЛОГИЧЕСКИЙ ШАБЛОН



Нельзя удалить системный шаблон.



1. Выберите логический шаблон, который необходимо удалить, в окне **"Управление логическим шаблоном"**.
2. Нажмите **Логический шаблон > Удалить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Удалить**  на панели инструментов **Логического шаблона Mgt.**  
→ Появится всплывающее окно с подтверждением.
3. Нажмите **Да**.  
→ Логический шаблон удаляется из окна "Управление логическим шаблоном".

### 11.4. ПРОСМОТР ЛОГИЧЕСКОГО ШАБЛОНА



1. Выберите логический шаблон, который вы хотите просмотреть в окне **Управления логическими шаблонами**.
2. Нажмите **Логический шаблон > Просмотр** в строке меню,  
или  
Нажмите **Просмотр**  на панели инструментов **Логический шаблон Mgt.**  
→ Появится окно "Просмотр логических шаблонов". Все полосы на шаблоне вместе с их соответствующими позициями и виртуальными идентификаторами образца перечислены



## 12. УПРАВЛЕНИЕ СПИСКАМИ

Список- это логический шаблон, к которому вы добавили конкретные данные конкретного теста.



1. Нажмите **Админ > Список Mgt** в строке меню,

или

Нажмите **Список Mgt**  в панели инструментов **Админ**.

→ Открывается окно "Управление листами".

### 12.1. СОЗДАТЬ НОВЫЙ СПИСОК



1. Нажмите **Список > Новый** в строке меню,

или

Нажмите **Создать**  на панели инструментов **Список Mgt**.

→ Появится окно "Создать новый список". Отобразится Шаг 1.

2. Выберите категорию теста.
3. Необязательно: введите идентификатор листа.
4. Необязательно: введите комментарий.
5. Нажмите **Далее**.
6. Выберите логический шаблон, на котором вы хотите основать свой лист.
7. Нажмите **Завершить**.  
→ Открывается окно "Редактор листов". Слева находится обзор со всеми установленными тестами и их соответствующими полосками. Справа - изображение листа, который Вы собираетесь создать

#### 12.1.1. ПАРАМЕТРЫ СПИСКА

- Идентификационный номер списка  
Отображается идентификатор листа, введенный на первом этапе создания листа. Приложение по умолчанию вводит идентификатор листа формата "уууммдд\_000". Это означает, что поле **"Идентификатор листа"** никогда не останется пустым.
- Комментарий к списку  
По желанию можно добавить конкретный комментарий к этому списку.
- Включено  
Если список отключен, вы не сможете использовать его для сканирования.

#### 12.1.2. ДЕТАЛИ ТЕСТА

- Идентификатор образца  
Приложение по умолчанию вводит образец ID формата "[Идентификатор листа]\_0000". Это означает, что поле ID образца никогда не останется пустым.
- Пациент  
Отобразится пациент (код).
- Список работ  
Чтобы упростить экспорт результатов после интерпретации, можно прикрепить полоски к списку работ. Если лист был создан во время импорта из системы LIMS, то ID рабочего списка заполняется.

- Врач  
Отобразится врач (код).
- Комментарий  
По желанию вы можете добавить конкретный комментарий к этому тесту.

### 12.1.3. СТАТИСТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

- Дата анализа  
Вы можете ввести дату анализа, нажав на стрелку в раскрывающемся списке и выбрав ее.
- Номер лота  
Приложение по умолчанию вводит номер лота, который использовался последним для данного конкретного типа полосы.

### 12.1.4. ДОБАВИТЬ ПОЛОСУ



1. Выберите полосу в разделе **Обзор теста/Полосы** слева.
2. Выберите позицию на новом листе справа.
3. Нажмите 
  - Полоска добавляется к вашему новому списку в том положении, которое вы выбрали.
4. Повторяйте шаги с 1 по 3 до тех пор, пока не добавите все необходимые полосы.
5. Нажмите **Список > Сохранить** в строке меню, или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Список Mgt.**



Вы можете добавить все полосы теста сразу, просто выбрав название теста в Обзоре теста/полоски и нажав .

### 12.1.5. ДОБАВИТЬ ШКАЛУ ЯРКОСТИ



Вы можете добавить только одну шкалу яркости на лист.



1. Выберите положение шкалы яркости на новом листе справа.
2. Нажмите правой кнопкой мыши.
3. Нажмите **Добавить > Шкала яркости**.
  - Откроется окно "Поиск шкалы яркости", в котором перечислены все доступные шкалы яркости.
4. Выберите шкалу яркости, которую вы хотите добавить.
5. Нажмите **Выбрать**.
  - Шкала яркости добавляется к новому листу справа от окна "Редактор листов".

### 12.1.6. ВЫБЕРИТЕ НЕСКОЛЬКО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ПОЛОС



1. Нажмите первую полосу в новом логическом шаблоне справа.
2. Удерживайте **<SHIFT>**, нажимая последнюю полосу, которую вы хотите выбрать в вашем новом логическом шаблоне справа.  
→ Все полосы, начиная с первой и заканчивая последней, выбраны.

### 12.1.7. СНИМИТЕ ПОЛОСКУ



1. Выберите полосу на новом листе справа.
2. Нажмите   
→ Полоса удаляется из этой конкретной позиции на вашем новом листе.
3. Повторяйте шаги с 1 по 2 до тех пор, пока не удалите все необходимые полосы.
4. Нажмите **Список > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Список Mgt.**

### 12.1.8. ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОЛОСЫ



1. Выберите полосу на новом листе справа.
2. Нажмите  чтобы переместить полосу в положение 20.
3. Нажмите  чтобы переместить полосу на одну позицию вниз.
4. Нажмите  чтобы переместить полосу на одну позицию вверх.
5. Нажмите  чтобы переместить полосу в положение 1.  
→ Полоса перемещается на новое место на вашем новом листе.
6. Повторяйте шаги с 1 по 5, пока не разместите все необходимые полосы.
7. Нажать **Список> Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  на панели инструментов редактора листов.

### 12.1.9. ЗАПОЛНИТЕ ЛИСТ



1. Выберите полосу или тест в **Обзоре тестов / Полосок** слева.
2. Нажмите **Заполнить**  в панели инструментов редактора листов.  
→ Все пустые позиции на новом листе заполняются полосками, которые вы выбрали в "Обзоре испытаний/Полосок" слева.
3. Нажмите **Лист > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов редактора листов.

### 12.1.10. ВНИМАНИЕ

Эта опция позволяет прикрепить полосу к тесту. К тесту можно прикрепить, например, полосу 1 при помощи полоска 2. Полоска и тест, который вы хотите прикрепить не обязательно должны быть на тот же лист.



1. Выберите полосу, которую хотите прикрепить.
2. Нажмите правой кнопкой мыши.
3. Нажмите **Прикрепить к**.  
→ Появляется диалоговое окно "Выбор теста для прикрепления".
4. Нажмите Тесты на этом листе, если полоска, принадлежащая тесту, к которому вы хотите прикрепить вашу информацию, находится на только что созданном листе, или  
Нажмите **Другие тесты**, если полоска, принадлежащая тесту, к которому вы хотите прикрепить ваши данные, находится на другом листе.  
→ В нижней части окна приведен список тестов, к которым вы можете прикрепить свои данные. Если нижняя часть окна остается пустой, то в ней отсутствуют тесты, к которым Вы можете прикрепить свои данные.
5. Нажмите **Выбрать**.



Если вы хотите прикрепить все полосы на одном листе ко всем полосам на другом листе, нажмите Прикрепить к листу

### 12.1.11. ПЕРЕОПРЕДЕЛЕНИЕ

Эта опция позволяет заменить полосу на листе.



1. Выберите полосу, которую вы хотите использовать для переопределения другого теста.
2. Нажмите правой кнопкой мыши.
3. Нажмите **Переопределить**.  
→ Появится диалоговое окно "Выберите тест для переопределения".
4. Нажмите кнопку тесты на этом листе, если тест, который вы хотите переопределить, находится на только что созданном листе, или  
Нажмите **Другие тесты**, Если тест, который вы хотите переопределить, находится на другом листе.  
→ Список тестов, которые вы можете переопределить, приведен в нижней части окна. Если нижняя часть окна остается пустой, то нет доступных тестов, которые можно было бы переопределить.
5. Нажмите **Выбрать**.  
→ Идентификатор образца полосы, которую вы хотите использовать для переопределения другого теста, изменился на идентификатор образца переопределенной полосы.

### 12.1.12. СОХРАНИТЬ СПИСОК КАК ЛОГИЧЕСКИЙ ШАБЛОН



Эта опция доступна только системному администратору (SYSDBA) и / или пользователям группы администраторов.



1. Нажмите **Лист > Сохранить** как логический шаблон в строке меню.  
→ *Появляется всплывающее окно с запросом имени нового логического шаблона.*
2. Введите имя для нового логического шаблона.
3. Нажмите **ОК**.  
→ *Появляется информационное сообщение, информирующее о том, что логический шаблон сохранен в базе данных.*
4. Нажмите **ОК**.

## 12.2. РЕДАКТИРОВАНИЕ СПИСКА



1. Выберите лист, который вы хотите отредактировать, в окне **Управление листами**.
2. Нажмите **Список > Изменить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Изменить**  в панели инструментов **Список Mgt**.  
→ *Появляется окно "Редактор листов" и отображается лист.*
3. Внести изменения в лист.
4. Нажмите **Список > Сохранить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов редактора листов.
5. Нажмите **Список > Закрыть** в строке меню.  
или  
Нажмите **<ESC>**.  
→ *Появляется окно "Управление листами". Лист, который Вы только что отредактировали, все еще выбран.*

## 12.3. УДАЛИТЬ СПИСОК

Удаление списка удалит список из базы данных. Однако, если список содержит отсканированные и интерпретированные тесты, то для обеспечения прослеживаемости список будет не удален, а отключен.



1. Выберите список, который необходимо удалить, в окне **"Управление листами"**.
2. Нажмите **Список > Удалить** в строке меню  
или  
  
Нажмите **Удалить** в панели инструментов **Список Mgt**.  
→ *Показывается всплывающее окно с подтверждением.*
3. Нажмите **Да**.  
→ *Лист удаляется из окна "Управление листами".*

## 12.4. ПРОСМОТР СПИСКА



1. Выберите список, который необходимо просмотреть в окне **"Управление листами"**.
2. Нажмите **Список> Просмотр** в строке меню,  
или  
  
Нажмите **Вид** на панели инструментов Список Mgt.  
→ Отображается "Просмотр списков". Перечисляются все полосы на листе вместе с их соответствующими позициями и идентификаторами образцов.

## 12.5. ОБЗОРНЫЙ ОТЧЕТ ПО СПИСКУ



1. Выберите список, для которого требуется обзорный отчет, в окне **"Управление списками"**.
2. нажмите Список > Отчет в строке меню,  
или  
Нажмите **Отчет**  в панели инструментов Список Mgt.  
→ Отображается окно "Параметры отчета".
3. Выберите пункт назначения.
4. При необходимости выберите принтер/каталог.
5. Нажмите **ОК**.  
→ Отобразится "Обзорный отчет листа". Лист идентифицируется, и все полосы перечисляются вместе с их соответствующими позициями, идентификаторами образца, идентификатором пациента и типом полосы.

## 12.6. СКАНИРОВАНИЕ СПИСКА



1. Нажмите **Список> Сканировать > [Сканер]** в строке меню,  
или  
Нажмите **Сканировать**  в панели инструментов редактора списков.  
→ Появляется окно "Параметры отчета".
2. Выберите тип отчета.
3. При необходимости выберите пункт назначения.
4. Нажмите **ОК**.  
→ Отображается окно "Процесс сканирования", в котором отображаются различные этапы и ход их выполнения. (Появляется сообщение).
5. Нажмите **ОК**).

## 13. ТЕСТ: СКАНИРОВАНИЕ

### 13.1. ПОДГОТОВКА ПОЛОС



1. Возьмите оригинальный шаблон для чтения.
2. Удалить белую защитную бумагу из шаблона для чтения.
3. Тщательно выровняйте контрольную линию полосок с предварительно напечатанной черной полосой выравнивания на шаблоне считывания. Убедитесь, что полосы расположены горизонтально и посередине предварительно напечатанной серой зоны.
4. Крепко закрепить все полосы по всей длине на клеевой линии.
5. Повторяйте шаги со 2 по 4 до тех пор, пока все полосы не будут зафиксированы на шаблоне для чтения.
6. Дайте полоскам полностью высохнуть

### 13.2. ТЕСТ: СКАНИРОВАНИЕ



ОТКАЛИБРУЙТЕ ВАШ СКАНЕР ЕЖЕМЕСЯЧНО!



КАЛИБРОВКА СКАНЕРА ДОЛЖНА БЫТЬ ПОВТОРЕНА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВОГО СКАНЕРА ТОГО ЖЕ ТИПА, ЧТО И ПРЕДЫДУЩИЙ!



ВАША ШКАЛА ЯРКОСТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНА К СВЕТУ. УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ХРАНИТЕ ЕЕ В ТЕМНОТЕ!



ДЕРЖИТЕ ВАШУ ШКАЛУ ЯРКОСТИ ЧИСТОЙ И НЕПОВРЕЖДЕННОЙ!



НЕ УДАЛЯЙТЕ ШКАЛУ ЯРКОСТИ ПОСЛЕ ТОГО, КАК ОНА ПРИКРЕПЛЕНА К ШАБЛОНУ ЧТЕНИЯ!



СКАНИРОВАНИЕ МОКРЫХ ПОЛОС МОЖЕТ ДАТЬ ОШИБОЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ!



ВСЕГДА ПРОВЕРЯЙТЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СКАНИРОВАНИЯ ВИЗУАЛЬНО!



ИСПОЛЬЗУЙТЕ ТОЛЬКО НАСТРОЕННЫЙ И ОТКАЛИБРОВАННЫЙ СКАНЕР!



1. Нажмите **Новый тест > Сканирование** в строке меню.
2. Выберите логический шаблон, который вы хотите использовать.  
→ Появляется окно "Создать новый лист". Отображается шаг 1.

3. Выберите категорию испытания.
4. Дополнительно: введите идентификатор листа.
5. Необязательно: введите комментарий к листу.
6. Нажмите **Далее**.
7. Выберите логический шаблон, на котором будет основываться лист.
8. Нажмите **Завершить**  
→ Открывается окно "Редактор листов". Слева находится обзор со всеми установленными тестами и их соответствующими полосками. Справа - изображение листа, который Вы собираетесь создать.
9. Необязательно: если вы хотите удалить полосу, выберите полосу в новом листе справа и нажмите .
10. Необязательно: если вы хотите добавить полосу/тест, выберите **полосу/тест в Обзоре полосок/тестов** слева, выберите позицию в новом листе справа и нажмите .
11. Необязательно: если вы хотите добавить шкалу серого для защиты калибровки (см. главу "8.3 Защита калибровки, р37"), выберите положение шкалы серого в вашем новом листе справа, нажмите правую кнопку мыши, а затем нажмите кнопку **Добавить > Шкала серого**.
12. Дополнительно: если вы хотите переместить полосу в положение 20, выберите полосу и нажмите .
13. Необязательно: если Вы хотите переместить полосу на одну позицию вниз, выберите полосу и нажмите .
14. Дополнительно: если Вы хотите переместить полосу на одну позицию вверх, выберите полосу и нажмите .
15. Дополнительно: если Вы хотите переместить полосу в положение 1, выберите полосу и нажмите .
16. Необязательно: Внести изменения в данные **Листа, тестовые данные и/или Данные полосы**.
17. Нажмите **Лист > Сохранить** в строке меню.  
или  
Нажмите "**Сохранить**"  в панели инструментов **Редактора листов**.  
→ Лист справа - точная копия вашего шаблона для чтения.
18. Убедитесь, что все полосы полностью высохли.
19. Убедитесь, что сканер был откалиброван в течение последнего месяца. Если нет, сначала откалибруйте сканер (см. главу " 8.2 калибровка сканера, стр. 36")
20. Расположите считывающий шаблон лицевой стороной вниз в правом верхнем углу сканера в вертикальной ориентации.
21. Закройте крышку сканера.
22. Нажмите "**Лист**" > "**Сканировать**" > [**Сканер**] в строке меню.  
или   
Нажмите **Сканировать** в панели инструментов **Редактора листов**.  
→ Появляется окно "Опции отчета"
23. Выберите тип отчета
24. Выберите пункт назначения в случае необходимости.
25. Нажмите **ОК**



→ Отображается окно "Процесс сканирования", в котором отображаются различные этапы и ход их выполнения. (Появляется сообщение)

26. (Нажмите **ОК**)

27. Проверьте результаты сканирования визуально

### 13.2.1. ПЕРЕСКАНИРОВАТЬ

Если вы не уверены, что процедура сканирования прошла успешно, например, если вы заметили, что кровать сканера была грязной, вы можете пересканировать полосу(и).



1. Расположите шаблон считывания, который необходимо пересканировать лицевой стороной вниз, в правом верхнем углу сканера в вертикальной ориентации.
2. Закройте крышку сканера
3. Нажмите **Админи > Лист Mgt** в строке меню.  
или  
Нажмите **Лист Mgt**  в панели инструментов Администрирование
4. Выберите лист с полосой (полосами), которые необходимо пересканировать.
5. Нажмите **Лист > Редактировать** в строке меню.  
или  
Нажмите **Изменить**  в панели инструментов Лист Mgt
6. Выберите полосу (полосы), которую вы хотите пересканировать.
7. Нажмите правой кнопкой мыши.
8. Выберите **Повторное Сканирование**  
→ Полоса отмечена маркером.
9. Повторяйте шаги с 6 по 8 до тех пор, пока не выберите все полосы, которые вы хотите пересканировать.
10. Нажмите **"Лист" > "Сканировать" > [Сканер]** в строке меню.  
или  
Нажмите **Сканировать**  в панели инструментов Редактора листов.  
→ Появляется окно "Параметры отчета".
11. Выберите тип отчета
12. Выберите пункт назначения в случае необходимости
13. Нажмите **ОК**  
→ Отображается окно "Процесс сканирования", в котором отображаются различные этапы и ход их выполнения. (Появляется сообщение)
14. (Нажмите **ОК**)
15. Проверьте результаты сканирования визуально



При повторном сканировании полосы нельзя вносить какие-либо изменения в тестовые данные и/или полосы.

### 13.2.2. ОТМЕНИТЬ ПОВТОРНОЕ СКАНИРОВАНИЕ

Вы можете остановить процедуру сканирования:



1. Выберите полосу, которую вы сканируете
2. Нажмите правой кнопкой мыши
3. Нажмите **Отменить Повторное Сканирование**  
→ *Маркер снова превратится в галочку.*

### 13.3. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...когда вы хотите, чтобы приложение пропустило полосы, которые оно не может найти.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки, чтобы сделать возможной интерпретацию в меню Админ > Системные настройки > Оптическая интерпретация полосы > Автоматический пропуск полосы.



...когда вы хотите видеть сообщения, касающиеся распознавания оптических полос после генерации отчета(ов).

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню Админ > Системные настройки > Оптическая интерпретация полосы > Показывать сообщения перед генерацией отчетов.

## 14. ТЕСТ: ПРОВЕРКА И УТВЕРЖДЕНИЕ

### 14.1. УПРАВЛЕНИЕ ПОДПИСЧИКАМИ



Управление подписями можно найти в меню Администрирование. Однако, этот пункт меню показывается только системному администратору (SYSDBA) и/или пользователям группы администраторов.



1. Нажмите **Админ> Автоматический просмотр теста > Список Mgt** в строке меню, или

Нажмите **«Управление подписью»**  на панели инструментов «Автоматическая проверка тестов».

→ Откроется диалоговое окно «Управление подписывающей стороной».

#### 14.1.1. СОЗДАТЬ НОВУЮ ЗАПИСЬ



1. Нажмите "Подпись" > "Создать" в строке меню, или

Нажмите **Создать**  в панели инструментов **Подпись Mgt**,

или

Нажмите **<CTRL+N>**.

→ Откроется диалоговое окно «Создать нового подписывающего».

- Имя пользователя  
Введите имя пользователя по вашему выбору или выберите его с помощью кнопки **Обзор**.
- Функция  
Введите функцию пользователя или выберите ранее определенную функцию в выпадающем списке.
- Причина  
В выпадающем списке введите причину, по которой пользователь должен поставить свою подпись, или выберите ранее указанную причину.
- Тип теста  
Это поле включается только при редактировании подписи. В этом случае сигнализатор может быть назначен на другой тип теста.



Каждая комбинация функции и причины является уникальным идентификатором для группы знаков.



Новые записи пользователей также могут быть добавлены в приложение с помощью кнопки Обзор.

### 14.1.2. ИЗМЕНИТЬ ЗАПИСЬ



1. Выберите запись подписчика, которую вы хотите отредактировать, на вкладке **"Подписчики"** диалогового окна **"Управление подписчиками"**.
2. Нажмите **Подпись > Редактирование** в строке меню,  
или  
Нажмите **Редактирование**  на панели инструментов **Подписывающий Mgt**  
или  
Дважды щелкните по записи подписчика на вкладке **Подписчики**.  
→ *Открывается диалог "Редактор подписей".*
3. Внести изменения в запись подписчика.
4. Нажмите **ОК**.

### 14.1.3. УДАЛИТЬ ЗАПИСЬ ПОДПИСЧИКА



После удаления подписывающего устройства по умолчанию другой пользователь может стать подписывающим устройством по умолчанию.



1. На вкладке **Подписчики** диалогового окна **Управление подписчиками** выберите запись подписчика, которую хотите удалить.
2. Нажмите **Подпись > Удалить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Удалить**  в панели инструментов **Подписывающий Mgt**,  
или  
Нажмите **<Удалить>** кнопка.  
→ *Показывается всплывающее окно с подтверждением.*
3. Нажмите **Да**.  
→ *Запись о подписанте удаляется с вкладки "Подписчики".*

## 14.2. ПРЕДСТАВИТЬ ТЕСТЫ



1. Выберите тест(ы) по вашему выбору в тестовом браузере.
2. Нажмите **Админ > Автоматический просмотр теста > Отправить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Отправить**  на панели инструментов **Автоматического** просмотра тестов.  
→ *Откроется диалоговое окно "Отправить тест(ы)", и выбор теста может быть подтвержден или изменен.*
3. Нажмите **ОК**.  
→ *Появится экран "Определить подписантов".*
4. Выберите соответствующего подписавшего(ов) из доступного списка(ов).
5. Нажмите **ОК**.  
→ *Появится экран "Отправить сообщения".*
6. Нажмите **ОК**.

### 14.2.1. СТАТУС ТЕСТА



Вы можете отобразить статус теста, добавив колонку Статус теста в браузере теста. Дополнительную информацию см. в параграфе "5.5 Отображение/скрытие столбцов, стр. 25".

- **Создан**  
Эта редакция теста не была представлена.
- **Представлено**  
Этот пересмотренный вариант теста был представлен подписчикам и может быть пересмотрен. Однако никто из подписавших сторон еще не одобрил или не отклонил тест.
- **В обзоре**  
По крайней мере, один из подписавших сторон одобрил этот пересмотр теста, но не все подписавшие сторонники пересмотрели его.
- **Утверждено**  
Все подписавшие одобрили этот пересмотр теста.
- **Отклонено**  
Один подписант отклонил эту версию теста. Остальные подписи автоматически отклоняются.



После того, как была представлена конкретная редакция теста, невозможно представить другую редакцию того же теста. Только после утверждения или отклонения первой редакции может быть представлена новая редакция.

## 14.3. УПРАВЛЕНИЕ ПРОВЕРКОЙ КАЧЕСТВА



1. Выберите тест(ы) по своему выбору в тестовом браузере.
2. Нажмите **Админ > Автоматический просмотр теста > Просмотр теста Mgt** в строке меню  
или  
Нажмите кнопку **Тест Просмотр Mgt** на панели инструментов **Автоматического Просмотра Тестов**.  
→ Откроется экран "Управление проверкой тестов", и выбор теста может быть подтвержден или изменен.

### 14.3.1. ОБЗОР ТЕСТ

Можно одобрить или отклонить тест.



Рассматривать можно только стандартный отчет.



1. Нажмите **Проверить отзыв > Просмотр** в строке меню,  
или  
Нажмите **Отзыв** в панели инструментов **Тестовый обзор Mgt**.  
→ Появляется экран "Подписать" с полным отображением отчета(ов).
2. Введите пароль и/или комментарий.
3. Нажмите **"Утвердить"** или **"Отклонить"**.  
→ Приложение возвращается на экран "Управление тестовым обзором". Подписанный тест был удален из списка тестов для подписи.



Обоснование обязательно при отклонении теста: поле комментария должно быть заполнено.

### 14.3.2. ПЕРЕНАЗНАЧИТЬ ТЕСТ

Можно назначить на тест другого подписывающего. Этот сменный подписчик должен принадлежать к той же группе подписчиков.



1. Нажмите **Тест Просмотр** > Переназначить в строке меню,  
или  
Нажмите **Переназначить**  в панели инструментов **Тестового обзора Mgt**,  
или  
Дважды щелкните запись подписавшего на вкладке Подписывающие.  
→ На экране "Переназначение подписей" перечислены все подписавшие.
2. Выберите нового подписанта.
3. Нажмите **ОК**.  
→ Приложение возвращается в окно "Управление тестовым обзором".

### 14.4. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...когда вы решите не использовать автоматический тестовый обзор.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройки в меню **Админ > Системные настройки > Модуль библиотеки LiPA HLA > Автоматический просмотр тестов**. При установке значения Нет, возможности просмотра тестов удаляются из приложения. Изменение этой настройки требует перезапуска приложения, прежде чем оно вступит в силу.

## 15. ТЕСТОВЫЙ БРАУЗЕР



РЕГУЛЯРНО СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНЫЕ КОПИИ СВОЕЙ БАЗЫ ДАННЫХ!

### 15.1. РЕДАКТИРОВАНИЕ ТЕСТА



Привилегия редактирования тестов зависит от группы пользователей, к которой вы принадлежите. Подробнее см. параграф "6.1 Группы пользователей, р29".



1. Нажмите один раз на тестовую запись, которую вы хотите отредактировать.
2. Нажмите **Браузер > Редактировать тест** в строке меню,  
или  
Нажмите **Редактировать**  тест на панели инструментов **Браузера**.  
→ Открывается диалоговое окно "Редактирование существующего теста".
3. Внесите свои изменения.
4. Нажмите **ОК**.



Вы можете отменить изменения, внесенные в полосу, щелкнув правой кнопкой мыши и выбрав пункт отменить изменения в окне изменить существующий тест.

### 15.2. УДАЛИТЬ ТЕСТ



Привилегия удаления тестов зависит от группы пользователей, к которой вы принадлежите. Подробнее см. параграф "6.1 Группы пользователей, р29".



1. Нажмите один раз на тестовую запись, которую вы хотите удалить.
2. Нажмите **Браузер > Удалить** тест в строке меню,  
или  
Нажмите **Удалить тест**  на панели инструментов Браузера.  
→ Появляется диалоговое окно подтверждения
3. Нажмите **Да**,  
или  
Нажмите **<ENTER>**.  
→ Тестовая запись удаляется из базы данных.

### 15.3. РЕВИЗИЯ

Все версии выбранной записи теста перечислены на вкладке «Ревизия» в нижней части главного экрана. Выбранная ревизия отображается зеленым, а другие ревизии - синим.

Вы можете просматривать, распечатывать или сохранять стандартные отчеты предыдущих редакций:



1. Выберите тестовую запись, из которой вы хотите распечатать более раннюю ревизию.
2. Нажмите **Браузер > Отчет** в строке меню,  
или  
Нажмите **Отчет**  на панели инструментов **Браузера**.  
→ Открывается диалог "Параметры отчета".
3. Выберите **Стандартный отчет**.
4. Выберите пункт назначения отчета.
5. Выберите ревизию, которую вы хотите просмотреть, распечатать или сохранить в файле.
6. Нажмите **ОК**.

Более подробную информацию см. в пункте "16.3 Предварительный доклад, стр. 66".



## 16. ОТЧЕТ

### 16.1. НАСТРОЙКА ЗАГОЛОВКА ОТЧЁТА



Заголовок отчета можно настроить в Системных настройках меню Админ. Однако этот пункт меню показывается только системному администратору (SYSDBA).



1. Нажмите **Админ > Системные настройки** в строке меню, или

Нажмите **Системные настройки**  на панели инструментов **Настройка системы**.  
→ Открывается диалог "Системные настройки".

2. На вкладке "**Дерево**" выберите **Отчеты**.  
→ Детали "Отчета" перечислены на закладке "Детали".

3. Выберите элемент, который необходимо изменить на вкладке "**Детали**".

4. Нажмите **<ENTER>**,

или

Нажмите **Системные настройки > Изменить** в строке меню,

или

Нажмите **Изменить**  на панели инструментов "**Системные настройки**",

или

Дважды щелкните на элементе, который вы хотите изменить.

→ Появляется информация о конфигурации выбранного элемента.

5. Введите изменения в поле "**Значение**".

6. Нажмите **ОК**.

- Тип заголовка

Вы можете выбрать один из 3 вариантов:

- Лабораторная информация --> отображает информацию Системного администратора (SYSDBA), добавленную в "Настройки системы" > "Лабораторная информация". Дополнительную информацию см. в разделе "16.2 Добавление специфической лабораторной информации, стр. 65".
- Bitmap Logo --> отображает логотип, который указан в пункте ниже.
- Без заголовка

По умолчанию приложение использует в качестве заголовка свой собственный растровый логотип.

- Логотип Bitmap

Если вы выбрали использование растрового логотипа в качестве заголовка, вам нужно будет указать имя растровой карты и путь к ней.

- Система показателей

Вы можете выбрать между "см" и "дюйм" для указания полей отчетов.

- Левое поле

Если вы хотите, чтобы перфорация не мешала тексту отчета, следует использовать левое поле размером не менее 1,5 см или 0,6 дюйма.

- Правое поле

Если вы печатаете отчеты с обеих сторон листа и хотите избежать перфораций, мешающих тексту отчета, используйте правое поле не менее 1,5 см или 0,6 дюйма.

- Верхнее поле  
Если вы используете бумагу с предварительно отпечатанными заголовками, вы можете указать пустое место, которое должно быть включено в отчет.
- Нижнее поле  
Если вы используете бумагу с предварительно отпечатанными колонтитулами, вы можете указать пустое место, которое должно быть включено в отчет.

## 16.2. ДОБАВЛЕНИЕ ОТДЕЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ИНФОРМАЦИИ



Лабораторные данные можно настроить в Системных настройках меню Администрирование. Однако, этот пункт меню показывается только системному администратору (SYSDBA).



Если вы хотите, чтобы в заголовке отчета отображалась конкретная лабораторная информация, убедитесь, что в разделе "Настройки системы" > "Отчеты" в качестве типа заголовка выбрано "Информация о лаборатории". Дополнительную информацию см. в параграфе: "16.1 Настройка заголовка отчета, р64".



1. Нажмите **Админ > Системные настройки** в строке меню, или  
Нажмите **Системные настройки**  на панели инструментов **Настройка системы**.  
→ Открывается диалог "Системные настройки".
2. На вкладке "Дерево" выберите "Лабораторная информация".  
→ Подробности "Лабораторная информация" перечислены в закладке "Детали".
3. Выберите элемент, который необходимо изменить на вкладке "Детали".
4. Нажмите **Изменить**  на панели инструментов **"Системные настройки"**, или  
Нажмите **<ENTER>**, или  
Нажмите **Системные настройки > Изменить** в строке меню, или  
Дважды щелкните на элементе.  
→ Появляется информация о конфигурации выбранного элемента.
5. Введите свою информацию в поле **"Значение"**.
6. Нажмите **ОК**.

Теперь вы можете ввести конкретные данные вашей лаборатории, которые будут распечатываться в каждом отчете.

## 16.3. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ОТЧЕТ



1. Нажмите **Браузер > Отчет** в строке меню, или

Нажмите **Отчет**  на панели инструментов **Браузера**.

→ Появляется диалоговое окно "Параметры отчета".

### 16.3.1. ПАРАМЕТРЫ ОТЧЕТА



При выборе опции "Стандартный отчет" на вкладке "Общие" в окно "Параметры отчета" добавляется (добавляются) вкладка (вкладки) для тестирования, в которой можно определить содержимое отчета.

#### На вкладке "Общие":

- Тип отчета:  
Позволяет выбрать тип отчета, который вы хотите просмотреть.
- Назначение:
  - На экране: предварительный просмотр отчета будет отображаться на экране.
  - На принтер: отчет не будет отображаться на экране, но будет немедленно распечатан указанным принтером.
  - Файл: отчет не будет отображаться на экране, но будет экспортирован в указанный каталог. Эта опция доступна только системному администратору (SYSDBA) и / или пользователям группы администраторов.
- Выбор теста:
  - Текущий тест: отчет о выбранном в данный момент тесте будет отображен, распечатан или подшит.
  - Редакция: вы можете указать номер редакции отчета, который хотите просмотреть, распечатать или сохранить в файл. Однако более старые версии можно просматривать, печатать или хранить только при выборе стандартного отчета в качестве типа отчета.
  - Все выбранные (х тестов): отчеты по всем выбранным тестам будут отображаться, распечатываться или подшиваться.
  - Все в фильтре: отчеты по всем тестам в фильтре будут отображены, распечатаны или поданы.



Распечатайте отображаемый отчет.



Перейдите на предыдущую страницу документа.



Перейдите на следующую страницу документа.



Перейдите на первую страницу документа.



Перейдите к последней странице документа.



Открывает диалоговое окно "**Переход к номеру страницы**", в котором можно ввести страницы, на которые нужно перейти. При вводе "0" будет показана первая страница. Если ввести число выше, чем последняя страница, будет показана последняя страница.



Подходит по ширине.



Поместитесь на страницу.

Подходит на 100%.



Инструмент для увеличения:

- Левая кнопка мыши: увеличение.
- Правая кнопка мыши: уменьшить.



Ручной инструмент для перемещения по странице.



Отобразить две страницы отчета.

## 16.4. ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...когда вы хотите, чтобы данные вашей компании появлялись в каждом отчете.

- Системный администратор (SYSDBA) может выбрать информацию о лаборатории в качестве типа заголовка в меню **Админ > Системные настройки > Отчеты > Тип заголовка**. Лабораторная информация, которая была введена в разделе **Админ > Системные настройки > Лабораторная информация > Название/адрес/...** будет отображаться в каждом отчете.



...когда вы хотите, чтобы логотип вашей компании появлялся на каждом отчете.

- Системный администратор (SYSDBA) может выбрать тип заголовка Bitmap Logo в меню **Админ > Системные настройки > Отчетность > Тип заголовка**. Растровый логотип, который был определен в меню **Админ > Системные настройки > Отчеты > Растровый логотип**, будет отображаться на каждом отчете.

## 17. HLA В ОБЩЕМ



Если конкретный образец DRB (например, образец DRB1) не является подмножеством общего образца, то определенные полосы пропускаются, и приложение выдает результат общего образца.

### 17.1. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- **Ложная реактивность**  
Ложнореагирующий зонд - это зонд, который иногда может реагировать не так, как ожидалось.
- **Стандартный результат набора**  
Комбинации немодифицированных аллелей представлены в результате стандартного типирования.
- **Слабый результат проверки**  
При наличии на полосе слабого реактивного зонда (ов) приложение генерирует наиболее вероятный результат набора текста, основанный на наиболее вероятной реакционной способности слабого зонда (ов). Кроме того, приложение будет переключать наиболее и наименее вероятные реакции слабого зонда (ов), генерируя, таким образом, различные результаты проверки слабых зондов.
- **Результат виртуального набора**  
Для каждой аллели, где одна или несколько ложных реакций известны для определенного датчика проблемы или комбинации датчиков проблемы, приложение обеспечивает дополнительные виртуальные аллели. Для этого вносятся изменения в эти задания в исходном образце задания. Комбинации немодифицированных и виртуальных аллелей представлены в Результате виртуального типирования.
- **Ожидаемый результат набора**  
При отсутствии стандартного результата набора текста или результата виртуального набора текста приложение генерирует результат набора текста путем сложения или вычитания одного или двух зондов. Эти ожидаемые результаты набора текста представлены в различных случаях. Эту информацию следует рассматривать как дополнительную, а не как решающую.

### 17.2. ОБНОВЛЕНИЕ СПИСКА КОДОВ АЛЛЕЛЕЙ NMDP

NMDP обозначает "Национальную программу доноров костного мозга" и использует коды аллелей, чтобы сузить список аллелей, которые должны рассматриваться в данном локусе, исключив некоторые возможности.



В меню Админ вы можете найти Управление автокодами. Однако, этот пункт меню показывается только системному администратору (SYSDBA) и/или пользователям группы администраторов.



Списки кодов аллелей NMDP можно загрузить из Интернета по следующему адресу: <https://bioinformatics.bethematchclinical.org/HLA/numeric.v3.zip> Используется список "с цифровой сортировкой". Обратите внимание на выбор формата .txt новой номенклатурной версии. Вы можете подписаться на Список кодов номенклатуры NMDP Allele Code Mailing List и получать обновления Списка кодов номенклатуры NMDP ежедневно, еженедельно или ежемесячно по электронной почте. Переведено с помощью [www.DeepL.com/Translator](http://www.DeepL.com/Translator) (бесплатная версия)

Вы можете легко обновить свой список аллельных кодов NMDP:



1. Нажмите **Админ> LiPA HLA> Управление кодом аллеля** в строке меню.  
→ Откроется окно «Управление всем кодом».

2. Нажмите **Аллельный код > обновить NMDP** в строке меню,

или

Нажмите **Обновить NMDP**  на панели инструментов **Аллельный код Mgt.**

→ Открывается диалог "Выбор файла для импорта".

3. Выберите правильный txt-файл.

4. Нажмите **Открыть**.

→ (Если это не первое обновление, появится сообщение с просьбой подтвердить обновление).

5. (Нажмите **Да**).

→ Обновлен список анонимных кодов NMDP.

ПРИМЕЧАНИЕ: В зависимости от значения, установленного в системной настройке 'Обновить коды NMDP', отчет о разнице в обновлении будет или не будет генерироваться в процессе обновления, но имейте в виду, что генерация отчета занимает много времени. В случае, если отчет не будет сформирован, список будет просто заменен.

## 17.3. УПРАВЛЕНИЕ ТАБЛИЦЕЙ ВВОДА ТЕКСТА



1. Нажмите **Админ > LiPA HLA > Ввод таблицы Mgt.** в строке меню

→ Открывается диалоговое окно "Управление таблицей ввода LiPA HLA".

### 17.3.1. ПОКАЗАТЬ ТАБЛИЦУ НАБОРА ТЕКСТА



1. Выберите тест на вкладке "**Дерево**" слева.

2. Выберите таблицу набора текста, которую вы хотите видеть на вкладке "**Таблицы набора текста**" справа.

3. Нажмите **Таблица ввода > Показать** в строке меню,

или

Нажмите **Показать**  на панели инструментов **Таблица ввода Mgt**,

или

Дважды щелкните по таблице ввода, которую вы хотите видеть.

→ Отображается таблица ввода.

Номера зондов с красным фоном - это ложно-отрицательные зонды. Зондовые номера с синим фоном - это ложноположительные зонды. Все аллели отмечены знаком "\*", относящимся к "одному лайнеру". Один лайнер обозначается щелчком по закладке "Один лайнер".

### 17.3.2. ОТКЛЮЧИТЬ / ВКЛЮЧИТЬ ТАБЛИЦЫ ВВОДА ТЕКСТА



Приложение всегда будет использовать последнюю версию таблицы ввода.

Системный администратор (SYSDBA) и / или пользователи группы администраторов имеют возможность включать или отключать определенные таблицы ввода.



1. Выберите тест на вкладке "**Дерево**" слева.

2. Выберите таблицу ввода, которую вы хотите отключить/включить на вкладке "**Таблицы ввода**"

3. Нажмите **Таблица ввода > Включено** в строке меню.

→ Выбранная таблица ввода отключена/выключена.

## 17.4. УПРАВЛЕНИЕ ФИЛЬТРАМИ HLA

Эта опция позволяет анализировать HLA-данные в таблице базы данных, т.е. вы можете отфильтровать таблицу базы данных, чтобы увидеть записи, удовлетворяющие определенным условиям.

### 17.4.1. ФИЛЬТР HLA-ШАБЛОНОВ



1. Нажмите Браузер > Фильтр > Фильтр HLA Mgt в строке меню.

→ Открывается диалоговое окно "Управление HLA-фильтром".

2. Нажмите Фильтр > Новый в строке меню,

или

Нажмите **Новый**  в панели инструментов **Фильтр Mgt**.

3. В поле "Имя" введите имя нового фильтра.

4. Дополнительно: введите описание фильтра в поле **Описание**.

5. Нажмите **красный значок** Щелкните здесь во вкладке «**Определение**».

6. Выберите **Добавить** новое условие или **Добавить** новое вложенное условие.

7. Если вы хотите, чтобы записи соответствовали «любому» из следующих условий, щелкните **зеленый значок** «Все» (значение по умолчанию) и выберите любое.

8. Нажмите **синий значок** [Основа фильтра].

9. Нажмите **Результат ввода HLA> Шаблон**.

10. Нажмите **зеленую кнопку** [формула].

11. Нажмите кнопку **равно**.

12. Нажмите на синюю "  ".

13. Перечислите зонды, разделив их запятыми.

14. Нажмите красный значок , чтобы добавить новое (вложенное) условие или удалить текущее условие, и повторите шаги с 6 по 13.

15. Необязательно: нажмите **Фильтр> Сохранить** в строке меню,

или

Нажмите **Сохранить**  в панели инструментов **Фильтр Mgt**.

→ Появится всплывающее сообщение о том, что фильтр был сохранен в базе данных.

16. Нажмите **ОК**.

17. Нажмите **Фильтр > Заккрыть** и применить фильтр в строке меню,

или

Нажмите **Применить**  фильтр на панели инструментов **Фильтр Mgt**.

→ Таблица базы данных фильтруется по выбранным условиям. Примененный фильтр упоминается в строке состояния.

## 17.4.2. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...если вы не хотите, чтобы использовались списки кодов аллелей NMDP.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройку в **Админ> Системные настройки> Управление всеми кодами LiPA HLA> Активные списки кодов**. Системный администратор (SYSDBA) может изменить настройку в **Админ> Системные настройки> Управление всеми кодами LiPA HLA> Списки кодов Активный**.



...когда вы хотите повысить скорость работы приложения при интерпретации образцов LiPA HLA.

- Системный администратор (SYSDBA) может реализовать следующие настройки в **Админ> Системные настройки> Тестовый модуль LiPA HLA- [X]**:
  - **Режим ожидания** -> "Никогда".
  - **Тип ожидания** -> «Обнаружить»
  - **Глубина ожидания** -> «Один»
  - **Подробная информация о наборе номера** -> "Нет".
  - **Для DRB: режим виртуального набора текста** -> "если нет результата"
  - В меню **Админ > Системные настройки > Управление кодами LiPA HLA> Активные списки кодов** -> деактивировать.



## 18. ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТА



Управление пациентами можно найти в меню администратора. Однако этот пункт меню не отображается для пользователей Системной группы пользователей. Эти пользователи могут создавать новых пациентов только через диалоговое окно «Обзор». См. Параграф «9.1.2 Создание новой карты пациента или врача, стр. 39».



1. Нажмите **Админ > Пациент Mgt** в строке меню,

или

Нажмите **Пациент Mgt**  в панели инструментов **Администрирование**.

→ Открывается диалог "Управление пациентом".

### 18.1. СОЗДАТЬ НОВУЮ ЗАПИСЬ ПАЦИЕНТОВ

Так как пациенты могут иметь одно и то же имя, необходимо дать пациенту уникальный код, который может быть введен пользователем или который может быть сгенерирован приложением. Если введенный код уже существует, появится сообщение об ошибке.



1. Нажмите **Пациент > Новый** в строке меню,

или

Нажмите **Создать**  в панели инструментов **Пациент Mgt**.

→ Открывается диалог "Создать нового пациента". Приложение уже сгенерировало уникальный код.

2. Необязательно: введите имя пациента и/или комментарий.

3. Вы можете изменить сгенерированный код пациента при условии ввода уникального кода.

4. Нажмите Создать.

→ Новая запись о пациенте добавляется в базу данных пациентов.

- Имя  
Вы можете ввести имя по своему выбору (необязательное поле).
- Код  
Вы должны ввести уникальный код или использовать сгенерированный код.
- Этническая принадлежность  
Необязательное поле
- Место рождения  
Необязательное поле
- Дата рождения  
Необязательное поле. Вы можете ввести дату рождения, нажав на стрелку раскрывающегося списка и выбрав нужную дату.
- Комментарий  
Необязательное поле

## 18.2. РЕДАКТИРОВАНИЕ ЗАПИСИ ПАЦИЕНТА

Все данные пациента могут быть изменены при условии, что код пациента останется уникальным. Если старая запись о пациенте уже была связана с одним или несколькими тестами, ее данные будут обновлены в базе данных.

В диалоговом окне "**Редактирование пациента**" также можно включить или отключить запись пациента. Когда запись о пациенте отключена, на него больше нельзя ссылаться в новых тестах.



1. Выберите запись пациента, которую вы хотите отредактировать.
2. Нажмите **Пациент > Изменить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Изменить**  в панели инструментов **Пациент Mgt**,  
или  
Дважды щелкните по записи пациента, которую вы хотите отредактировать.  
→ *Открывается диалог "Редактирование пациента".*
3. Внести изменения в карточку пациента.
4. Нажмите **ОК**.

## 18.3. УДАЛИТЬ ЗАПИСЬ ПАЦИЕНТОВ

Удаление записи пациента приведет к удалению записи из базы данных. Однако, если данный пациент уже связан с одним или несколькими тестами, запись будет отключена, а не удалена, чтобы обеспечить прослеживаемость. Информационное сообщение проинформирует пользователя об отключении.



1. Выберите запись пациента, которую вы хотите удалить.
2. Нажмите **Пациент > Удалить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Удалить**  в панели инструментов **Пациент Mgt**,  
или  
Нажмите **<DELETE>**.  
→ *A confirmation pop-up is shown.*
3. Нажмите **Да**.  
→ *(Появляется информационное сообщение, в котором пользователь информируется об отключении записи о пациенте).*
4. (Нажмите **ОК**).  
→ *Записи о пациенте исчезли из списка или пациент отключен, а в колонке "Включен" написано "Нет".*

## 18.4. ИМПОРТИРОВАТЬ



Если код пациента записи, которую вы хотите импортировать, уже существует в таблице базы данных Управления пациентами, эта запись будет пропущена. Вы можете увидеть список пропущенных записей в отчете.



1. Создайте txt-файл формата: " код пациента "<TAB> " имя пациента "<TAB>" комментарий "(необязательно) <TAB>" этническая принадлежность "(необязательно) <TAB>" место рождения "(необязательно) <TAB>" дата рождения " (необязательно).
2. Убедитесь, что txt-файл закрыт.
3. Нажмите **Пациент > Импорт** в строке меню.
4. Выберите txt-файл.
5. Нажмите **Открыть**.  
→ Новые данные импортируются в список "Ведение пациентов", и появляется всплывающее окно подтверждения с просьбой сгенерировать отчет.
6. Нажмите **Да**, если вы хотите создать отчет.  
→ Отображается отчет, в котором перечислены все новые записи пациентов, которые были добавлены в таблицу базы данных "управление пациентами", а также все записи пациентов, которые не могли быть добавлены.
7. Нажмите **Нет**, если вы не хотите создавать отчет.

## 18.5. ЭКСПОРТ



1. Выберите записи о пациенте, которые необходимо экспортировать, в окне "Управление пациентом".
2. Нажмите **Пациент > Экспорт** в строке меню.  
→ Открывается диалоговое окно "Сохранить данные пациента в файл".
3. В поле Имя файла выберите пункт назначения экспортируемых данных пациента.
4. Нажмите **Сохранить**.  
→ Записи пациентов экспортируются в файл назначения в формате, совместимом с Excel (txt).



Другие функциональные возможности - "Поиск", "Заказ по" и "Фильтр" - рассматриваются в пункте "5 В общем, стр. 22".

## 18.6. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ...



... Когда импорт историй болезни прерывается из-за того, что приложение не может найти достаточно полей.

1. Откройте **проводник Windows**.
2. Выберите txt-файл с записями пациентов, которые вы хотите импортировать.
3. Нажмите правой кнопкой мыши.
4. Нажмите **Открыть с помощью > Блокнота**.
5. Удалите пустые строки или строки без кода пациента.
6. Нажмите **Файл > Сохранить**.
7. Закройте блокнот.
8. Импортируйте txt-файл в соответствии с процедурой.

## 19. РУКОВОДСТВО ВРАЧА



Управление врачом можно найти в меню администратора. Однако этот пункт меню не отображается пользователям группы системных пользователей. Эти пользователи могут создавать новых пациентов только через диалоговое окно просмотра. См. пункт "9.1.2 создание новой записи пациента или врача, стр. 39".



1. Нажмите **Админ > Врач Mgt** в строке меню,

или

Нажмите **Врач Mgt**  на панели инструментов **Администрирование**.

→ Открывается диалоговое окно "Управление врачом".

### 19.1. СОЗДАТЬ НОВУЮ ЗАПИСЬ ВРАЧА

Поскольку врачи могут иметь одно и то же имя, врачу должен быть предоставлен уникальный код, который может быть введен пользователем или который может быть сгенерирован приложением. Если введенный код уже существует, появится сообщение об ошибке.



1. Нажмите **Врач > Новый** в строке меню,

или

Нажмите **Новый**  на панели инструментов **"Врач Mgt"**.

→ Открывается диалог "Создать нового врача". Приложение уже сгенерировало уникальный код.

2. Необязательно: введите имя врача и/или комментарий.

3. Вы можете изменить сгенерированный врачом код при условии ввода уникального кода.

4. Нажмите Создать.

→ Новая запись о врачах добавляется в базу данных врачей.

- Имя  
Вы можете ввести имя по своему выбору (необязательное поле).
- Код  
Вы должны ввести уникальный код или использовать сгенерированный код.
- Комментарий  
Необязательное поле.

### 19.2. РЕДАКТИРОВАНИЕ ЗАПИСИ ВРАЧА

Все данные врача могут быть изменены при условии, что код врача останется уникальным. Если старые записи о врачах уже были связаны с одним или несколькими тестами, их данные будут обновлены в базе данных.

В диалоговом окне **"Редактирование записи врача"** также предусмотрена возможность включения или отключения записи врача. Если запись врача отключена, на нее больше нельзя ссылаться в новых тестах.



1. Выберите запись врача, которую вы хотите отредактировать.
2. Нажмите **Врач > Редактировать** в строке меню,  
или  
Нажмите **Изменить**  в панели инструментов **"Врач Mgt"**,  
или  
Дважды щелкните по записи врача, которую вы хотите отредактировать.  
→ *Открывается диалог "Редактирование врача".*
3. Внести изменения в историю болезни.
4. Нажмите **ОК**.

### 19.3. УДАЛИТЬ ЗАПИСЬ ВРАЧА

Удаление записи врача удалит эту запись из базы данных. Однако, если этот врач уже связан с одним или несколькими тестами, запись будет отключена, а не удалена, чтобы обеспечить прослеживаемость отчетов. Информационное сообщение проинформирует пользователя об отключении.



1. Выберите запись врача, которую вы хотите удалить.
2. Нажмите **Врач > Удалить** в строке меню,  
или  
Нажмите **Удалить**  в панели инструментов **"Врач Mgt"**,  
или  
Нажмите **<DELETE>**.  
→ *Показывается всплывающее окно с подтверждением.*
3. Нажмите **Да**.  
→ *(Появляется информационное сообщение, в котором пользователь информируется об отключении записи врача).*
4. (Нажмите **ОК**).  
→ *Запись врача исчезла из списка или врач отключен, и в столбце "включено" записывается "нет".*

### 19.4. ИМПОРТИРОВАТЬ



Если код врача для записи, которую вы хотите импортировать, уже существует в таблице базы данных "Управление врачами", запись будет пропущена. Список пропущенных записей можно посмотреть в отчете.



1. Создайте txt-файл формата: " код врача " **<ТАВ>** "имя врача" **<ТАВ>** "комментарий" (необязательно).
2. Убедитесь, что txt-файл закрыт.
3. Нажмите **Врач > Импорт** в строке меню.
4. Выберите txt-файл.
5. Нажмите **Открыть**.  
→ *Новые данные импортируются в список "Управление лечащим врачом", и появляется всплывающее окно подтверждения с просьбой сгенерировать отчет или нет.*
6. Нажмите **Да**, если вы хотите сгенерировать отчет.

→ Показывается отчет, в котором перечислены все новые записи врачей, которые были добавлены в таблицу базы данных "Управление врачами", а также все записи врачей, которые не могли быть добавлены.

7. Нажмите **Нет**, если вы не хотите создавать отчет.

## 19.5. ЭКСПОРТ



1. Выберите записи о врачах, которые вы хотите экспортировать, в окне **"Управление лечащим врачом"**.
2. Нажмите **Врач > Экспорт** в строке меню.  
→ Открывается диалоговое окно **"Сохранить данные врача в файл"**.
3. Введите пункт назначения экспортированных данных врача в поле **Имя** файла.
4. Нажмите **Сохранить**.  
→ Данные врача экспортируются в файл назначения в формате, совместимом с Excel (txt).



Другие функциональные возможности - "Поиск", "Заказ по" и "Фильтр" - рассматриваются в пункте "5 В общем, стр. 22".

## 19.6. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ...



... Когда импорт записей врача прерывается из-за того, что приложение не может найти достаточно полей.

1. Открыть проводник **Windows**.
2. Выберите txt-файл с медицинскими записями, которые необходимо импортировать.
3. Нажмите правой кнопкой мыши.
4. Нажмите **Открыть с помощью > Блокнот**.
5. Удалите пустые строки или строки без кода врача.
6. Нажмите **Файл > Сохранить**.
7. Закройте блокнот.
8. Импортируйте txt-файл в соответствии с процедурой.

## 20. ПОДКЛЮЧЕНИЕ LIMS

Приложение позволяет подключиться к системе управления лабораторной информацией (LIMS). Создавая рабочие листы в LIMS и импортируя их в приложение, можно создать несколько листов со всей информацией, необходимой для немедленного сканирования.

Технические характеристики, необходимые для создания интерфейса между LIMS и приложением, описаны в техническом документе, представленном на CD-ROM.

### 20.1. ТИПЫ РАБОЧИХ СПИСКОВ

Существует два типа рабочих списков: Стандартный рабочий список и Обновить рабочий список. В Стандартном рабочем списке все включённые полосы представляют собой новые записи, которые создаются в базе данных приложений.

В Рабочем списке обновлений все включенные полосы предназначены для обновления тестов, которые уже находятся в базе данных приложений.

### 20.2. СТАТУС РАБОЧЕГО СПИСКА

Статус автоматически присваивается приложением и зависит от конкретных критериев:

- Создано  
Этот список работ создан, но не содержит тестов.
- В процессе выполнения  
Этот список работ содержит тесты, которые не были интерпретированы.
- Готовы к экспорту  
Все тесты рабочего списка интерпретированы и готовы к экспорту.
- Частично экспортировано  
Все тесты рабочего списка были интерпретированы и хотя бы один из них уже экспортирован.
- Экспортировано  
Все тесты этого списка работ интерпретируются и экспортируются.
- Готово  
Это применимо только к списку работ по обновлению.  
Все полосы этого списка работ прикреплены к соответствующим тестам в базе данных.

### 20.3. WORK LIST MANAGEMENT

Управление рабочими списками предназначено для:

- управлять рабочими списками;
- импорт файлов рабочих списков из LIMS;
- экспортировать тесты, прикрепленные к рабочему списку, обратно в LIMS.



1. Нажмите **Админ > Рабочий список Mgt** в строке меню;

или

Нажмите **«Управление списком работ»**  на панели инструментов **«Список работ»**.

→ Откроется экран **«Управление списком работ»**.

### 20.3.1. CREATE A NEW WORK LIST MANUALLY



1. Нажмите **Рабочий список > Создать** в строке меню;  
или  
Нажмите **Создать**  в рабочем списке **Панель инструментов Mgt**,  
или  
Нажмите **<CTRL+N>**.  
→ *Открывается диалог "Создать новый список работ".*
2. Введите имя для рабочего списка
3. Нажмите **Завершить**

### 20.3.2. УДАЛЕНИЕ РАБОЧЕГО СПИСКА

Удаление рабочего списка приведет к его удалению из базы данных. Однако если один или несколько тестов уже прикреплены, этот рабочий список будет отключен, а не удален, чтобы обеспечить прослеживаемость тестов.



1. Выберите список работ, которые Вы хотите удалить..
2. Нажмите **Рабочий список > Удалить** в строке меню;  
или  
Нажмите **Удалить**  на панели инструментов **Рабочий список Mgt**,  
или  
Нажмите кнопку **<Удалить>**.  
→ *Показывается всплывающее окно с подтверждением.*
3. Нажмите **Да**.  
→ *(Появляется сообщение, информирующее пользователя о том, что список работ будет отключен).*
4. (Нажмите **ОК**).  
→ *Список работ исчез из списка или список работ отключен, а в колонке "Включен" написано "Нет".*

### 20.3.3. ИМПОРТ РАБОЧЕГО СПИСКА ИЗ LIMS



1. Нажмите **Рабочий список > Импорт** в строке меню;  
или  
Нажмите **Импорт**  в панели инструментов **Рабочий список Mgt**.  
→ *Открывается диалог "Импорт списка работ".*
2. Нажмите **Добавить файлы**.  
→ *Открывается диалоговое окно "Выбор файла (файлов) рабочего списка".*
3. Просмотреть местоположение списка(ов) работ, которые вы хотите импортировать.
4. Выберите рабочий(ие) список(ы).
5. Нажмите **Открыть** или дважды щелкните мышью.  
→ *Путь и имя файла добавляются в диалог "Импорт списка работ".*
6. Повторяйте с шага 2 до добавления всех рабочих списков, которые вы хотите импортировать.
7. Нажмите **Далее**.



8. Выберите, хотите ли вы распечатать обзорный отчет.
9. Нажмите **Далее**.  
→ Сообщение информирует вас о том, что импорт прошел успешно.
10. Нажмите **ОК**.  
→ Приложение возвращается в диалоговое окно "Импорт рабочего списка", где отображается журнал импорта.
11. Нажмите **Заккрыть**.  
→ Приложение возвращается на экран "Управление рабочими списками", где рабочий список добавляется в список.



Импортируемый журнал можно сохранить в файл или распечатать.

#### 20.3.4. ЭКСПОРТ ТЕСТОВ, ПРИКРЕПЛЕННЫХ К РАБОЧЕМУ СПИСКУ



Список работ, имеющий статус "Создан", не может быть экспортирован. Появляется сообщение о том, что тестовый экспорт отменен. Журнал экспорта указывает, что не найдено тестов для экспорта.



1. Выберите тесты, которые хотите экспортировать.
2. Нажмите **Список работ > Экспорт** в строке меню;  
или  
Нажмите **Экспорт**  в панели инструментов "**Рабочий список Mgt**".  
→ Открывается диалоговое окно "Экспорт тестов".
3. Введите имя и путь экспортного файла
4. Определите выбор экспорта.
5. Нажмите **"Далее"**.  
→ После завершения экспорта появится сообщение.
6. Нажмите **ОК**.  
→ Приложение возвращается на экран "Экспорт тестов", где отображается журнал экспорта.
7. Нажмите **Готово**  
→ Приложение возвращается в окно "Управление рабочими списками", где изменился статус экспортированного рабочего списка.



Журнал "Экспорт" можно сохранить в файл или распечатать.

#### 20.4. УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК: ЧТО ДЕЛАТЬ...



...если вы хотите изменить путь импорта или экспорта по умолчанию.

- Системный администратор (SYSDBA) может изменить путь по умолчанию в меню **Админ > Системные настройки > Управление рабочими списками > Путь импорта по умолчанию / Путь экспорта по умолчанию**. Новый путь будет предложен для каждого нового импорта или экспорта.

## 20.5. ТЕСТ-ЭКСПОРТ

Эта опция позволяет экспортировать все тесты, включая тесты, которые не прикреплены к рабочему списку.



Вы можете найти экспорт тестов в меню администратора. Однако этот пункт меню отображается только системному администратору (SYSDBA) и / или пользователям группы администраторов.



1. Выберите тест(ы), которые вы хотите экспортировать.
2. Нажмите **Админ> Тестировать экспорт** в строке меню;

или

Нажмите **Тестировать экспорт**  на панели инструментов **Рабочего списка**.  
→ Открывается диалоговое окно "Экспорт тестов".

3. Введите имя и путь экспортного файла.
4. Определите выбор экспортируемого файла.
5. Нажмите кнопку **Далее**.

→ После завершения экспорта появится информационное сообщение.

6. Нажмите **ОК**.

→ Приложение возвращается на экран "Экспорт тестов", где отображается журнал экспорта.

7. Нажмите **"Готово"**.

→ Приложение возвращается в Браузер тестирования.



Если выбран параметр экспорта "Все готово к экспорту", то будут экспортированы все тесты в базе данных, готовые к экспорту. Применяются следующие условия:

- Тесты должны быть интерпретированы.
- Тесты должны быть приложены к рабочему списку.
- Тесты еще не экспортированы.
- Тесты должны иметь статус "Одобрено", когда активна опция Автоматического просмотра тестов.

## 21. ОКНО РЕЗЕРВНОГО КОПИРОВАНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ

Окно резервное копирование и восстановление предоставляет инструмент для легкого создания резервных копий базы данных, зарегистрированных либо на локальном, либо на удаленном сервере баз данных Firebird, а также для восстановления созданных резервных копий. Это автономное приложение.



1. Закрыть заявку.
2. Открыть **проводник Windows**.
3. Перейдите в папку приложения на жестком диске, где установлено приложение.
4. Дважды щелкните по файлу **LiRAS\_BR.exe**.  
→ Открывается окно "Резервное копирование и восстановление".

### 21.1. РЕЗЕРВНАЯ КОПИЯ

Резервная копия (gbk-файл) - это копия базы данных для предотвращения потери данных в случае случайного повреждения или повреждения исходной базы данных (gdb-файл).



**РЕГУЛЯРНО СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНЫЕ КОПИИ СВОЕЙ БАЗЫ ДАННЫХ!**



**НЕ ОТКРЫВАЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ ВО ВРЕМЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ!**



**НЕ СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНУЮ КОПИЮ БАЗЫ ДАННЫХ ВО ВРЕМЯ РАБОТЫ ПРИЛОЖЕНИЯ!**



1. Нажмите **Файл > Резервное копирование** в строке меню, или  
Нажмите **Резервное копирование**  на панели инструментов **Резервное копирование и восстановление**.  
→ Появляется "Мастер резервного копирования базы данных".  
Отобразится экран приветствия.
2. Нажмите **Далее**

→ Отображается 1-й шаг мастера.

#### 21.1.1. СОЗДАЙТЕ РЕЗЕРВНУЮ КОПИЮ БАЗЫ ДАННЫХ, УСТАНОВЛЕННОЙ НА ВАШЕМ КОМПЬЮТЕРЕ



Администратор базы данных НЕ является тем же самым, что и SYSDBA системного администратора приложения.



Имя пользователя администратора базы данных по умолчанию - "SYSDBA".  
Пароль администратора базы данных по умолчанию - "мастер-ключ".



1. Выберите **Локальный сервер**.
2. Нажмите "Далее".  
→ Отображается 2-й шаг мастера.

3. Введите имя пользователя администратора базы данных.
4. Введите пароль.
5. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 3-й шаг мастера.
6. Введите путь к местоположению вашей текущей базы данных.
7. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 4-й шаг мастера.
8. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить файл резервной копии вашей базы данных.

Если вы хотите создать только 1 файл резервной копии:

9. Нажмите **"Готово"**.
  - Файл резервной копии (gbk-файл) создается в указанном вами каталоге. Операции протоколирования отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".
  - Если резервное копирование прошло успешно, в конце файла указывается "Резервное копирование завершено в [дата и время]".
  - Если резервное копирование не было успешным, появится сообщение об ошибке.

Если вы хотите разделить вашу резервную копию на несколько файлов:

10. Нажмите **"Больше файлов"**.  
→ Появляется окно "Определить файлы".
11. Нажмите **Добавить**.
12. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить дополнительный файл(ы) резервной копии вашей базы данных.
13. Введите размер, который вы хотите присвоить дополнительным файлам резервных копий.
14. Введите количество дополнительных файлов резервной копии, которые вы хотите создать.
15. Нажмите **ОК**.  
→ Дополнительные резервные файлы добавляются в окно "определить файлы". Размер последнего файла резервной копии всегда отображается как "n/a", так как его размер зависит от количества оставшихся данных в базе данных.
16. Нажмите **ОК**.
17. Нажмите **Готово**.
  - Файлы резервных копий (gbk-file) создаются в указанном вами каталоге. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "резервное копирование и восстановление".
  - Если резервное копирование прошло успешно, "Резервное копирование завершено в [дата и время]" появляется в конце файла.
  - Если резервное копирование не было успешным, появится сообщение об ошибке.
18. Нажмите **Файл > Сохранить** в строке меню, если вы хотите сохранить протоколы в файл, или  
Нажмите **Сохранить** в панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.
19. Нажмите **Файл > Печать** в строке меню, если вы хотите распечатать протоколы, или  
Нажмите **Печать**  на панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.

## 21.1.2. СОЗДАЙТЕ РЕЗЕРВНУЮ КОПИЮ ИЗ БАЗЫ ДАННЫХ, УСТАНОВЛЕННОЙ НА ДРУГОМ КОМПЬЮТЕРЕ ИЛИ СЕРВЕРЕ



Чтобы найти полное имя компьютера удаленного сервера:

1. Запустите **Панель** управления (доступна через меню Пуск Windows)  
→ *Открывается диалог "Панель управления".*
2. Дважды щелкните по системе.
3. Перейдите в раздел/вкладку **Имя компьютера**.  
→ *Вы можете прочитать полное имя компьютера.*



1. Выберите **Удаленный сервер**.
2. Введите полное имя компьютера, на котором зарегистрирована база данных Firebird.
3. Выберите протокол.
4. Нажмите **Далее**.  
→ *Отображается 2-й шаг мастера.*
5. Введите имя пользователя администратора базы данных.
6. Введите пароль.
7. Нажмите **Далее**.  
→ *Отображается 3-й шаг мастера.*
8. Введите путь к местоположению базы данных.
9. Нажмите **Далее**.  
→ *Отображается 4-й шаг мастера.*
10. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить файл резервной копии вашей базы данных.

Если вы хотите создать только 1 файл резервной копии:

11. Нажмите **"Готово"**.
  - *Файл резервной копии (gbk-file) создается в указанном вами каталоге. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "резервное копирование и восстановление".*
  - *Если резервное копирование прошло успешно, в конце файла появится надпись "резервное копирование завершено в [дата и время]".*
  - *Если резервное копирование не было успешным, появится сообщение об ошибке.*

Если вы хотите разделить резервную копию на несколько файлов:

12. Нажмите **"Дополнительные файлы"**.  
→ *Появляется окно "Определить файлы".*
13. Нажмите **Добавить**.
14. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить дополнительный файл(ы) резервной копии вашей базы данных.
15. Введите размер, который вы хотите присвоить дополнительным файлам резервных копий.
16. Введите количество дополнительных файлов резервной копии, которые вы хотите создать.
17. Нажмите **ОК**.  
→ *Дополнительный файл(ы) резервной копии добавляется (ся) в окно "Определение файлов". Размер последнего файла резервной копии всегда отображается как "n/a", поскольку его размер зависит от объема оставшихся базы данных.*

18. Нажмите **ОК**.

19. Нажмите **Готово**.

→ *Файлы резервных копий (gbk-file) создаются в указанном вами каталоге. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "резервное копирование и восстановление".*

→ *Если резервное копирование прошло успешно, в конце файла появится надпись "резервное копирование завершено в [дата и время]".*

→ *Если резервное копирование не было успешным, появится сообщение об ошибке.*

20. Нажмите **Файл > Сохранить** в строке меню, если вы хотите сохранить инструкции ведения журнала в файл, или

Нажмите **Сохранить** на панели инструментов **Резервное копирование и восстановление**.

21. Нажмите **Файл > Печать** в строке меню, если вы хотите распечатать протоколы, или

Нажмите **Печать**  на панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.

### 21.1.3. АВТОМАТИЧЕСКИ СОЗДАВАТЬ РЕЗЕРВНЫЕ КОПИИ



Автоматическое резервное копирование базы данных в сетевой каталог невозможно.



1. Открыть проводник **Windows**.

2. Перейдите в папку приложения на жестком диске, на котором установлено приложение.

3. Выделите файл **LiRAS\_BR.exe**.

4. Щелкните правой кнопкой мыши и создайте ярлык.

5. Выделите **ярлык на файл LiRAS\_BR.exe**.

6. Нажмите правую кнопку мыши и выберите **Свойства**.

7. Перейдите на вкладку **Короткий путь**.

8. Добавьте **"\_ -Auto\_-Productfamily: "LiPA HLA"** к exe-пути в поле **Цель**.

9. Нажмите **ОК**.

→ *Файл резервной копии создается в каталоге по умолчанию вместе с файлом журнала.*

→ *Если резервное копирование прошло успешно, "резервное копирование завершено в [дата и время]" появляется в конце файла.*

→ *Если резервное копирование не было успешным, появится сообщение об ошибке.*

Можно создать резервную копию файла и автоматически скопировать его в сетевой каталог с помощью Планировщика Windows.



1. Нажмите **Пуск Windows**.

2. Нажмите **Программы > Принадлежности > Блокнот**.

→ *Отображается файл блокнота без названия.*

### 3. Введите следующие команды:

[диск, на котором установлено приложение]:

**cd** \[путь к папке на этом диске, в котором установлено приложение]

**LiRAS\_BR.exe -Auto-Product Family:**"[папка семейства продуктов]"

[диск, на котором вы хотите сохранить копию файла резервной копии]:

**cd** \[путь к папке диска, на котором вы хотите сохранить копию файла резервной копии]

если не существует [полный путь к местоположению, в котором вы хотите сохранить копию файла резервной копии]:

**\backup mdbackup**

скопируйте "[путь к папке, в которой установлено приложение] \database\\*."

**gbk** " [полный путь к папке, в которой вы хотите сохранить копию файла резервной копии]:\backup\\*. gbk /y

→ Пример:

```
c:
cd \Program Files(x86)\LiRAS\LiPA HLA
LiRAS_BR.exe -Auto -ProductFamily:"LiPA HLA"
I:
cd \Copy Files
if not exist I:\Copy Files\backup md backup
copy "c:\program files(x86)\LiRAS\LiPA HLA\database\*.gbk" I:\Copy
Files\backup\*.gbk /y
```

→ Резервная копия базы данных будет храниться в папке базы данных каталога LiPA HLA. Копия всех \*.gbk файлов будет храниться в папке "backup" каталога "Copy Files" на диске L.

4. Нажмите **Файл > Сохранить как...** в строке меню.
5. Очистите поле **Имя** файла.
6. Введите **Backup и Copy.cmd** в качестве имени файла.
7. Нажмите **Сохранить**.
8. Нажмите **Файл > Выход** в строке меню.  
→ Файл "Backup and Copy. cmd" закрыт.



#### Пользователи Windows XP:

9. Нажмите кнопку **Пуск Windows XP**
10. Нажмите **Настройки > Панель управления**.
11. Дважды щелкните **Запланированные задачи**.

#### Пользователи Windows 7, 8 и 10:

Нажмите **Пуск Windows** Выбор  
Нажмите **Панель управления**  
Нажмите **Административные инструменты**

12. Дважды щелкните **Добавить** запланированную задачу.

→ Откроется окно "мастер запланированных задач".

13. Нажмите **Далее**.

14. Выберите **резервную копию, и скопировать.cmd-файл**, который вы создали в шаге 6.

15. Следуйте инструкциям на экране. Нажмите **Далее**.

16. Нажмите **Готово**.

Задача "Резервное копирование" и копирование отображается в "Окне" запланированных задач".

Открыть **Планировщик заданий**

→ Выберите «Создать базовую задачу» (в списке «Действия»).

→ Введите имя и описание операции, например: Введите "LiRAS Автоматическое резервное копирование в качестве имени

Нажмите **Далее**.

→ Выберите нужный триггер для запуска автоматического резервного копирования к примеру: Выберите Ежедневное резервное копирование, чтобы создать резервную копию на еженедельной основе.

Нажмите **Далее**.

→ Теперь в зависимости от выбранного триггера можно указать более подробную информацию, например: Укажите время и день недели для запуска резервного копирования.

→ Сохраните опцию "Запустить программу" и нажмите "Далее".

Выберите **резервную копию, и скопировать.cmd-файл**, который вы создали в шаге 6.

Нажмите **Далее** и **Завершите** задачу резервное копирование и копирование", которая будет указана в окне" запланированные задачи". Если вы не видите свою задачу, нажмите на библиотеку планировщика задач в левой части планировщика задач.

Для проверки задания:

17. Выделите только что созданную задачу резервного копирования и копирования.

18. Нажмите правую кнопку мыши.

19. Нажмите **Выполнить**.

→ После выполнения задачи в столбце "Последний результат" следует указать 0x0, что означает, что задача была выполнена успешно.

## 21.2. ВОССТАНОВИТЬ

Восстановление базы данных означает замену поврежденного или испорченного файла базы данных резервной копией.



**НЕ ОТКРЫВАЙТЕ ПРИЛОЖЕНИЕ ВО ВРЕМЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ!**





ЕСЛИ ВЫ ВОССТАНАВЛИВАЕТЕ БАЗУ ДАННЫХ С НЕСКОЛЬКИМИ  
ФАЙЛАМИ РЕЗЕРВНЫХ КОПИЙ, УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВЫ ВЫБРАЛИ КАЖДЫЙ  
ФАЙЛ РЕЗЕРВНОЙ КОПИИ!



1. Нажмите **Файл > Восстановить** в строке меню,  
или

Нажмите **Восстановить**  в панели инструментов **Резервное копирование и**

**Восстановление.**

→ Появляется предупреждающее сообщение, подчеркивающее, что существующая база данных будет перезаписана.

2. Если вы уверены, что текущая база данных может быть перезаписана, нажмите **Да**.  
→ Появляется "Мастер восстановления базы данных". Отобразится экран приветствия.

3. Нажмите **"Далее"**.

→ Отображается 1-й шаг мастера.

### 21.2.1. ВОССТАНОВИТЬ БАЗУ ДАННЫХ НА ВАШЕМ КОМПЬЮТЕРЕ



Администратор базы данных НЕ является тем же самым, что и SYSDBA системного администратора приложения.



Имя пользователя администратора базы данных по умолчанию - "SYSDBA".  
Пароль администратора базы данных по умолчанию - "мастер-ключ".



1. Выберите **Локальный сервер**.
2. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 2-й шаг мастера.
3. Введите имя пользователя администратора базы данных.
4. Введите пароль.
5. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 3-й шаг мастера.
6. Введите путь к местоположению файла(ов) резервной копии.
7. Нажмите **"Далее"**.  
→ Отображается 4-й шаг мастера.
8. Введите путь к местоположению базы данных, которую вы хотите заменить.

Если вы хотите создать только 1 восстановленный файл:

9. Нажмите **"Готово"**.  
→ База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "резервное копирование и восстановление".  
→ Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".  
→ Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.

Если вы хотите создать несколько восстановленных файлов:

10. Нажмите кнопку **"Больше файлов"**.  
→ Появляется окно "Определить файлы".

11. Нажмите **Добавить**.
12. Введите путь к восстановленным файлам.
13. Введите размер, который вы хотите присвоить файлу (-ам).
14. Введите количество дополнительных файлов, которые вы хотите создать.
15. Нажмите **ОК**.
  - *Дополнительный(ые) файл(ы) добавляются в окно "Определение файлов". Размер последнего файла резервной копии всегда отображается как "n/a", поскольку его размер зависит от объема оставшихся данных в базе данных.*
16. Нажмите **ОК**.
17. Нажмите **"Готово"**.
  - *База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".*
  - *Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".*
  - *Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.*
18. Нажмите **Файл > Сохранить** в строке меню, если вы хотите сохранить протоколы в файл, или  
 Нажмите **Сохранить** в панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.
19. Нажмите **Файл > Печать** в строке меню, если вы хотите распечатать протоколы, или  
 Нажмите **Печать**  на панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.

### 21.2.2. ВОССТАНОВИТЬ БАЗУ ДАННЫХ НА ДРУГОМ КОМПЬЮТЕРЕ ИЛИ СЕРВЕРЕ



Найти полное имя компьютера удаленного сервера:

1. Запустите панель управления (доступно через меню "Пуск" Windows).
  - *Открывается диалог "Панель управления".*
2. Дважды щелкните по **Системе**.
3. Перейдите в раздел/вкладку **Имя** компьютера.
  - *Вы можете прочитать полное название компьютера.*



1. Выберите **Удаленный сервер**.
2. Введите полное имя компьютера, на котором зарегистрирована база данных Firebird.
3. Выберите **Протокол**.
4. Нажмите **Далее**.
  - *Отображается 2-й шаг мастера.*
5. Введите имя пользователя администратора базы данных.
6. Введите пароль.
7. Нажмите **Далее**.
  - *Отображается 3-й шаг мастера.*
8. Введите путь к местоположению файла(ов) резервной копии.
9. Нажмите **Далее**.
  - *Отображается 4-й шаг мастера.*

**10.** Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить файл резервной копии вашей базы данных.

Если вы хотите создать только 1 файл резервной копии:

**11.** Нажмите **"Готово"**.

- База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".
- Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".
- Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.

Если вы хотите разделить вашу резервную копию на несколько файлов:

**12.** Нажмите кнопку **"Больше файлов"**.

- Появляется окно "Определить файлы".

**13.** Нажмите **Добавить**.

**14.** Введите путь к файлам восстановления.

**15.** Введите размер, который вы хотите назначить файлу (-ам).

**16.** Введите количество дополнительных файлов, которые вы хотите создать.

**17.** Нажмите **ОК**.

- Дополнительный(ые) файл(ы) добавляются в окно "Определение файлов". Размер последнего файла резервной копии всегда отображается как "n/a", поскольку его размер зависит от объема оставшихся данных в базе данных.

**18.** Нажмите **ОК**.

**19.** Нажмите **"Готово"**.

- База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".
- Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".
- Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.

**20.** Нажмите **Файл > Сохранить** в строке меню, если вы хотите сохранить протоколы в файл,

или

Нажмите **Сохранить** в панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.

**21.** Нажмите **Файл > Печать** в строке меню, если вы хотите распечатать протоколы,

или

Нажмите **Печать**  на панели инструментов **Резервное копирование и Восстановление**.

## 22. ПРОСМОТР ИНФОРМАЦИИ О РЕЗЕРВНОМ КОПИРОВАНИИ

Средство просмотра информации о резервном копировании доступно через тестовый браузер и содержит обзор всех попыток резервного копирования и восстановления. С помощью этого средства просмотра можно создавать резервные копии базы данных на вашем компьютере. Средство просмотра резервной информации предоставляется в виде плагина и должно быть установлено, как описано в пункте "3.5 установка плагинов, р17".



1. Нажмите **Админ > Резервное копирование** информации Vwг в строке меню, или

Нажмите **Просмотр**  информации о резервном копировании на панели инструментов настройки системы.

→ Откроется окно "Просмотр информации о резервном копировании".

### 22.1. СОЗДАТЬ РЕЗЕРВНУЮ КОПИЮ БАЗЫ ДАННЫХ НА ВАШЕМ КОМПЬЮТЕРЕ

Резервная копия (gbk-файл) - это копия базы данных для предотвращения потери данных в случае случайного повреждения или повреждения исходной базы данных (gdb-файл).



**РЕГУЛЯРНО СОЗДАВАЙТЕ РЕЗЕРВНЫЕ КОПИИ СВОЕЙ БАЗЫ ДАННЫХ!**



Администратор базы данных НЕ является тем же самым, что и SYSDBA системного администратора приложения.



Имя пользователя администратора базы данных по умолчанию - "SYSDBA". Пароль администратора базы данных по умолчанию - "мастер-ключ".



1. Нажмите **Информация о резервном копировании > Резервное копирование** в строке меню, или

Нажмите **Резервное копирование**  на панели инструментов программы просмотра Информации о резервном копировании.

→ Появляется "Мастер резервного копирования базы данных". Отобразится экран приветствия.

2. Нажмите **"Далее"**.

→ Отображается 1-й шаг мастера.

3. Введите имя пользователя администратора базы данных.

4. Введите пароль.

5. Нажмите **Далее**.

→ Отображается 2-й шаг мастера.

6. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить файл резервной копии вашей базы данных.

Если вы хотите создать только 1 файл резервной копии:

7. 1Нажмите **"Готово"**.

→ База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".

→ Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".

→ Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.

Если вы хотите разделить вашу резервную копию на несколько файлов:

8. Нажмите кнопку "Больше файлов".

→ Появляется окно "Определить файлы".

9. Нажмите **Добавить**.

10. Введите путь к месту, в котором вы хотите хранить дополнительный файл(ы) резервной копии вашей базы данных.

11. Введите размер, который вы хотите присвоить дополнительным файлам резервных копий.

12. Введите количество дополнительных файлов резервной копии, которые вы хотите создать.

13. Нажмите **ОК**.

→ *Дополнительный(ые) файл(ы) добавляются в окно "Определение файлов". Размер последнего файла резервной копии всегда отображается как "n/a", поскольку его размер зависит от объема оставшихся данных в базе данных.*

14. Нажмите **ОК**.

15. Нажмите **"Готово"**.

→ *База данных заменяется файлом резервной копии. Инструкции ведения журнала отображаются в окне "Резервное копирование и восстановление".*

→ *Если восстановление прошло успешно, в конце файла появится надпись "Восстановление завершено в [дата и время]".*

→ *Если восстановление не было успешным, появится список сообщений об ошибках.*

16. Нажмите **Информация о резервном копировании > Сохранить** в строке меню, если вы хотите сохранить протоколы, или

Нажмите **Сохранить** в панели инструментов программы просмотра **Информации о резервном копировании**.

17. Нажмите **Информация о резервном копировании > Печать** в строке меню, если вы хотите распечатать протоколы, или

Нажмите **Печать**  на панели инструментов программы просмотра **Информации о резервном копировании**.

## 22.2. РАСШИРЕНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ

Расширение базы данных может быть необходимо, когда размер базы данных становится слишком большим. При выполнении расширения базы данных существующий файл gdb разбивается на несколько файлов gdb. Общий размер файлов остается неизменным, но активный файл gdb, используемый приложением, будет уменьшен.

Отдельной функциональной кнопки для выполнения расширения базы данных нет, но это можно сделать просто с помощью:



1. Создание резервной копии существующей базы данных (см. пункт "21.1 Резервное копирование, р82").
2. Восстановление файла резервной копии в несколько файлов (см. пункт "21.2 Восстановление, р87").

## 23. УПРАВЛЕНИЕ АУДИТОРСКИМИ ПРОВЕРКАМИ



Управление журналом аудита можно найти в меню администратора. Однако этот пункт меню отображается только системному администратору (SYSDBA) и / или пользователям группы администраторов.

Управление журналом аудита предоставляет вам список всех критических транзакций, которые произошли в базе данных.

### 23.1. ЭКСПОРТ ЗАПИСИ



1. Нажмите **Админ > Журнал аудита** в строке меню,  
или  
Нажмите **Журнал аудита Mgt** на панели инструментов **Настройки системы**.  
→ Откроется окно «Управление журналом аудита».
2. Нажмите **Браузер > Фильтр > Фильтр Mgt** в строке меню,  
или  
Нажмите **Фильтр Mgt** на панели инструментов управление **Журналом аудита**.
3. Создайте фильтр для группировки записей журнала аудита, которые вы хотите экспортировать. Дополнительные сведения см. В пункте "5.10.1 создание нового фильтра, р27".
4. Нажмите **Фильтр > Закрывать и применить фильтр** в строке меню после создания и сохранения фильтра,  
или  
Нажмите **Применить фильтр** на панели инструментов **Фильтр Mgt** после создания и сохранения фильтра.  
→ Таблица базы данных журнала аудита фильтруется по выбранным условиям. Примененный фильтр упоминается в строке состояния.
5. Нажмите **Аудит журнала > Экспорт** в строке меню.  
→ Открывается диалог "Обзор папок".
6. Выберите папку, в которую вы хотите экспортировать файл.
7. Нажмите **ОК**.  
→ Файл экспортируется как HTML-документ в назначенную папку.

## 24. ПОДДЕРЖКА

### 24.1. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Если вы не можете найти ответ на свои проблемы в руководстве или в системе онлайн-помощи, вы можете связаться с нами по телефону:

- Звоните по телефону (32) 9 329 16 11, с 9.00 утра до 5.00 вечера Центральному европейскому времени (GMT+01.00)
- Отправьте нам по факсу (32) 9 329 17 75
- Отправка сообщения электронной почты [ЗаказчикуSupport@fujirebio-europe.com](mailto:ЗаказчикуSupport@fujirebio-europe.com)



- При обращении к нам постарайтесь подготовить следующую информацию:
  - Точная формулировка сообщения об ошибке
  - Операционная система
  - Тип ПК
  - Тип сканера
  - Объем памяти вашего ПК
  - Версия вашего программного обеспечения
- Для проблем печати: тип принтера, имя драйвера принтера и номер версии.

## 25. ТОРГОВЫЕ МАРКИ

- LiRAS является торговой маркой компании Fujirebio Europe N.V., зарегистрированной в США и других странах.
- Firebird является зарегистрированной торговой маркой компании Firebird Foundation Incorporated.
- Microsoft, Windows, Internet Explorer и Excel являются зарегистрированными товарными знаками Microsoft Corp.
- NMDP и National Marrow Donor Program являются зарегистрированными торговыми марками Национальной программы доноров в области товарного знака.



**INNO-LIA HCV Score**

0459

**Изменения выделены серым**Производитель:

Fujirebio Europe N.V.

Technologiepark 6

9052 Gent

Belgium

Тел.: +32 9 329 13 29

BTW BE 0427.550.660

RPR Gent

Дистрибьютор:

Fujirebio Europe N.V.

Тел.: +32 9 329 13 29

Факс: +32 9 329 19 11

[customer.support@fujirebio-europe.com](mailto:customer.support@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Germany GmbH

Тел.: +49 511 857 3931

Факс: +49 511 857 3921

[germany@fujirebio-europe.com](mailto:germany@fujirebio-europe.com)

Fujirebio France SARL

Тел.: +33 1 69 07 48 34

Факс: +33 1 69 07 45 00

[france@fujirebio-europe.com](mailto:france@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Italia S.r.l.

Тел.: +39 06 965 28 700

Факс: +39 06 965 28 765

[italy@fujirebio-europe.com](mailto:italy@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Iberia S.L.

Тел.: +34 93 270 53 00

Факс: +34 93 270 53 17

[spain@fujirebio-europe.com](mailto:spain@fujirebio-europe.com)[www.e-labeling.eu/FRI16393](http://www.e-labeling.eu/FRI16393)**ЕВРОПА**

GR

**+800 135 79 135**

00 800 161 220 577 99

IS

800 8996

LT

880 030 728

RO

0800 895 084

SK

0800 606 287

TR

0800 142 064 866

LI

+31 20 796 5692

MT

+31 20 796 5693

EE

0800 0100 567

**не ЕВРОПА****+31 20 794 7071**

US

+1 855 236 0910

CA

+1 855 805 8539

AR, BR, CO, UY, AU,

+800 135 79 135

NZ, RU

8:00 – 17:00 GMT+1

| ПН | ВТ | СР | ЧТ | ПТ | СБ | ВС |
|----|----|----|----|----|----|----|
| X  | X  | X  | X  | X  |    |    |

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Условные обозначения .....                                                                 | 2         |
| Назначение.....                                                                            | 3         |
| Принцип анализа .....                                                                      | 3         |
| Реагенты .....                                                                             | 4         |
| <i>Описание, подготовка к применению и рекомендуемые условия хранения .....</i>            | <i>4</i>  |
| Необходимые материалы, не входящие в комплект .....                                        | 5         |
| Безопасность и окружающая среда .....                                                      | 5         |
| Образец (отбор и обработка).....                                                           | 6         |
| Замечания и меры предосторожности.....                                                     | 6         |
| Действия, выполняемые вручную .....                                                        | 7         |
| <i>Инструкции по промывке.....</i>                                                         | <i>8</i>  |
| <i>Инструкции по инкубации .....</i>                                                       | <i>9</i>  |
| Автоматические процедуры анализа.....                                                      | 9         |
| Результаты .....                                                                           | 9         |
| <i>Регистрация .....</i>                                                                   | <i>9</i>  |
| <i>Валидация .....</i>                                                                     | <i>11</i> |
| <i>Интерпретация результатов .....</i>                                                     | <i>11</i> |
| <i>Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных заболеваний .....</i> | <i>12</i> |
| Ограничения процедуры.....                                                                 | 12        |
| Эффективность анализа.....                                                                 | 12        |
| <i>Чувствительность.....</i>                                                               | <i>12</i> |
| <i>Специфичность.....</i>                                                                  | <i>14</i> |
| <i>Воспроизводимость .....</i>                                                             | <i>14</i> |
| Товарные знаки .....                                                                       | 14        |

**Условные обозначения**

Производитель

Медицинское изделие для диагностики в условиях *in vitro*

Код серии



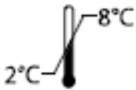
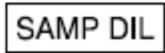
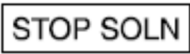
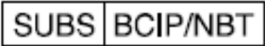
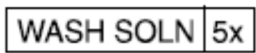
Номер по каталогу



Использовать до



см. инструкцию по применению

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|    | Температурные границы                          |
|    | Биологические риски                            |
|    | Содержит достаточное количество для <n> тестов |
|    | Конъюгат                                       |
|    | Отрицательный контроль                         |
|    | Положительный контроль                         |
|    | Разбавитель образца                            |
|    | Раствор для остановки реакции                  |
|    | Тест-полоски                                   |
|    | Субстрат BCIP/NBT                              |
|    | Раствор для промывки 5x                        |
|   | Опасно!                                        |
|  | Осторожно!                                     |
|  | Линейный иммуноанализ                          |

### Назначение

INNO-LIA HCV Score представляет собой линейный иммуноблот, предназначенный для обнаружения антител к вирусу гепатита С в образцах плазмы и сыворотки крови человека. Данный набор служит для подтверждения положительного результата, полученного при скрининге образцов сывороток или плазмы крови человека.

### Принцип анализа

INNO-LIA HCV Score — это система линейного иммуноанализа 3-го поколения, которая включает антитела к ВГС из ядерного участка, E2 гипервариабельного участка (HV), участка геликазы NS3 и участков NS4A, NS4B и NS5A.

Антигены нанесены в виде 6 дискретных линий на нейлоновую тест-полоску с пластиковой подложкой. Помимо антигенов к ВГС, на каждую полоску нанесены четыре контрольных линии: фоновый контроль, 3+ положительный контроль (антитела к иммуноглобулину человека), который также используется в качестве контроля нанесения пробы, 1+ положительный контроль (иммуноглобулин G человека), и пороговая линия ± (иммуноглобулин G человека).

INNO-LIA HCV Score работает по принципу иммуноферментного анализа. Испытуемый образец инкубируют в ячейке вместе с тест-полоской. При наличии в образце антител к ВГС, они образуют связи с линиями антител к ВГС на полоске. Далее в ячейку прибавляют аффинно очищенные козы антигена к иммуноглобулину G человека (H+L), меченые щелочной фосфатазой, которые образуют связи с любыми образовавшимися комплексами антигенов/антител к ВГС. В результате инкубации с ферментным субстратом получают каштановое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству ВГС-специфичных антител, полученных из образца на любой из линий тест-полоски (Рис. 1). Реакцию с окрашиванием прерывают серной кислотой.

**Реагенты****Описание, подготовка к применению и рекомендуемые условия хранения**

- При температуре 2-8°C до и после вскрытия все реагенты стабильны до истечения срока годности. Реагенты не замораживать. Не используйте комплект после истечения срока годности.
- Все реагенты и пластиковую пробирку с тест-полосками необходимо вынуть из коробки и дать нагреться до комнатной температуры (от 18 до 25°C) за 60 минут до использования. Все реагенты и пробирку с тест-полосками необходимо убрать в холодильник (2-8°C) сразу после использования.
- Изменения внешнего вида реагентов в комплекте могут указывать на то, что они нестабильны или пришли в негодность.
- После вскрытия оригинальной пробирки с тест-полосками неиспользованные полоски стабильны в течение 16 недель при 2-8 °C в закрытой оригинальной пробирке с влагопоглотителем.

Реагенты в комплекте:

| <b>Компонент</b>                          | <b>Количество</b> | <b>Ссылка</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------|-------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Тест-полоски                              | 20                | 57329         | 20 тест-полосок INNO-LIA, покрытых антигеном, для анализа на ВГС.                                                                                                                                                                                                                 |
| Разбавитель образца                       | 30 mL             | 57304         | Обозначенный цветом (зеленый) фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы из бычьего белка и 0,3% хлорацетамид в качестве консерванта.                                                                                                                    |
| Готовый к использованию конъюгат          | 45 mL             | 57301         | Обозначенные цветом (красный) козы антитела к иммуноглобулину G человека с щелочной фосфатазой в трис-буфере, содержащем стабилизаторы из бычьего белка, детергент и 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамид в качестве консерванта.                                         |
| Отрицательный контроль                    | 0,12 mL           | 57307         | Базовый матрикс с 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                          |
| Положительный контроль                    | 0,12 mL           | 57308         | Инактивированная сыворотка крови человека, положительная на антитела к ВГС с 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                                                               |
| Готовый к использованию субстрат BCIP/NBT | 45 mL             | 57302         | 5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат/нитросиний тетразолий в субстрате диметилформимида с 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                                                        |
| Раствор для остановки реакции             | 45 mL             | 57303         | 0,1 mol/L серной кислоты.                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Раствор для промывки                      | 45 mL             | 57299         | Обозначенный цветом (голубой) трис-буфер, содержащий хлорид натрия, детергент и 0,02% бром-нитродидоксан в качестве консерванта для разведения дистиллированной водой с получением пятикратного объема. Разведенный раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при 2 - 8°C. |
| Инкубационный лоток                       | 2                 | -             | По 11 ячеек в каждом                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Клейкая пленка для запечатывания ячеек    | 5                 | -             |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

|                              |   |   |                                                        |
|------------------------------|---|---|--------------------------------------------------------|
| Бланк для регистрации данных | 1 | - | Для хранения обработанных полосок.                     |
| Памятка                      | 1 | - | Для идентификации прореагировавших линий с антигенами. |

**Необходимые материалы, не входящие в комплект**

- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками для отбора 10 µL, 20-200 µL и 200-1000 µL соответственно.
- Орбитальный шейкер или качалка (см. «Инструкции по инкубации»).
- Центрифуга или аналогичный аппарат.
- Градуированные химические стаканы: 10, 25, 50, и 100 mL.
- Пинцет для работы с тест-полосками.
- Таймер.
- Опционально:
  - Фен (обычный для волос) или сухой инкубатор при 37°C.
  - Многоканальная пипетка и одноразовые флаконы для введения разбавителя образца, конъюгата, субстрата, раствора для остановки реакции и раствора для промывки.
  - Вакуумный аспиратор, содержащий 5% раствор гипохлорита натрия в бутылке для отходов.

**Безопасность и окружающая среда**

Для получения информации о потенциально опасных компонентах см. паспорт безопасности (Safety Data Sheet - SDS) и маркировку на продукции. Последняя версия паспорта безопасности доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).

**Warning****SAMP DIL**

Содержит 2-хлорацетамид  
H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P362+P364

**Danger****SUBS BCIP/NBT 100x**

Содержит N,N-диметилформамид  
H360D P280 P201 P308+P313 P303+P361+P353 P305+P351+P338

*Предупреждения об опасности*

|       |                                             |
|-------|---------------------------------------------|
| H317  | Может вызывать аллергические кожные реакции |
| H360D | Может нанести вред плоду                    |

*Меры предосторожности*

|                |                                                                                                                                                                                 |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием необходимо получить специальные инструкции.                                                                                                                |
| P261           | Не вдыхать пары/ аэрозоль.                                                                                                                                                      |
| P280           | Необходимо надеть защитные перчатки/защитную одежду /защитные очки/респиратор.                                                                                                  |
| P302+P352      | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: следует немедленно промыть большим количеством воды/...                                                                                                  |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Следует немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или под душем].                                                       |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течении нескольких минут. Извлечь контактные линзы, если таковые имеются и есть возможность их извлечь. Продолжить промывание. |
| P308+P313      | При попадании под воздействие материала или подозрении на воздействие: обратиться за врачебной помощью.                                                                         |
| P333+P313      | При раздражении кожи или сыпи: обратиться за врачебной помощью.                                                                                                                 |
| P362+P364      | Загрязненную одежду снять и постирать перед повторным использованием                                                                                                            |

- До выполнения данного анализа необходимо допускать только персонал, прошедший надлежащую подготовку.
- При работе с образцами, положительным и отрицательным контролем следует всегда учитывать потенциальный риск инфицирования.
- Положительный и отрицательный контроль дали отрицательный результат анализа на антитела к ВИЧ-1/ВИЧ-2, антитела к ВГС и ВГВ. Ни один метод анализа не может полностью обезопасить от передачи инфекционного материала из образцов крови. Поэтому при работе с любыми компонентами крови и биологическими материалами следует учитывать потенциальный риск инфицирования и действовать соответственно.

Все компоненты крови и биологические материалы следует утилизировать в соответствии с одной из установленных процедур, представленных ниже.

- Обработать в автоклаве в течение как минимум 15 минут при 121°C.
- Сжечь одноразовый материал.
- Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия, чтобы итоговая концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия. Оставить постоять на ночь перед утилизацией.

**ВНИМАНИЕ:** прежде чем добавить гипохлорит натрия, нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоты.

- Ношение индивидуальных средств защиты обязательно: перчатки и защитные очки обязательны при работе с опасными или инфицированными веществами.
- Утилизировать отходы следует в соответствии с руководством по утилизации отходов в организации. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные экологические нормы.
- Не удаляйте раствор для остановки реакции в бутылку для отходов, где находится гипохлорит натрия.

#### **Образец (отбор и обработка)**

- **INNO-LIA HCV Score** работает с сывороткой или плазмой крови человека в пробирках с цитратом, гепарином или ЭДТА в качестве коагулянта.
- Перед хранением, сыворотку или плазму необходимо отделить от сгустков крови или кровяных клеток в центрифуге.
- Образцы следует хранить при температуре 2-8 °C. Для хранения в течение более одной недели необходимо замораживать образец при -20°C или ниже.
- Не используйте образцы, обработанные термически.
- Многократно (более 3 раз) замороженные и размороженные образцы могут давать ошибочные результаты.

#### **Замечания и меры предосторожности**

- Не смешивайте реагенты с разными серийными номерами.
- Замерзшие реагенты (например, хранившиеся слишком близко к хладоэлементу) могут давать ошибочные результаты!
- **Убедитесь, что в ходе анализа вы используете правильный объем образца и время промывки.**
- Обеспечьте микробиологическую чистоту реагентов.
- Перед использованием убедитесь в однородности образцов и контрольных образцов.
- Не прикасайтесь к мембране полосок. Всегда берите полоски за пластиковую подложку.
- Для каждого образца используйте новый наконечник пипетки.
- Убедитесь, что тест-полоска **лежит в ячейке мембраной вверх**.
- Все этапы инкубации следует выполнять с помощью шейкера или качалки (используйте качалку только для инкубации на ночь). Необходимо встряхивать растворы с полосками,

чтобы получить равномерное окрашивание и добиться максимальной чувствительности. При встряхивании поверхность полоски должна быть полностью погружена в раствор.

- Заклейте ячейки специальной пленкой, чтобы во полоски не высохли время инкубации на ночь.
- Неиспользованные и использованные полоски следует хранить в защищенном от яркого света и сильного тепла месте.
- Данный комплект должны использовать только работники, прошедшие обучение по работе в клинической лаборатории.
- Повторное использование полосок или ячеек ведет к ошибочным результатам анализа.
- Использование разрезанных полосок ведет к ошибочной интерпретации результатов.

### **Действия, выполняемые вручную**

Пожалуйста, прочитайте примечания и меры предосторожности перед выполнением анализа.

#### **- 16 часовая процедура инкубации образца**

1. Возьмите необходимое количество ячеек для анализа.
2. В ходе каждой процедуры тестирования можно проанализировать положительный и отрицательный контроль в целях внутреннего контроля.
3. Промаркируйте ячейки для образца (и контрольного образца) и поместите на лоток.
4. Убедитесь, что образец больного или контрольный образец не попал в соседние ячейки. При работе вручную осторожно добавляйте в ячейки образец больного, контрольный образец и реагенты во избежание перекрестного загрязнения.
5. Далее в каждую испытываемую ячейку прибавляют 1 mL разбавителя образца.
6. Прибавляют 10 µL образца или контрольного образца в ячейку с соответствующей маркировкой.
7. Вынимают необходимое количество тест-полосок из контейнера и помещают по одной полоске в каждую из ячеек. С помощью пинцета тест-полоску помещают в ячейку мембраной вверх.  
**НЕОБХОДИМО ПОЛНОСТЬЮ ПОГРУЗИТЬ ПОЛОСКУ В ЖИДКОСТЬ.**
8. Заклеивают ячейки специальной пленкой (см. «Замечания и меры предосторожности»). Инкубируют образцы: помещают лоток на шейкер или качалку (см. «Инструкции по инкубации») и встряхивают в течение ночи ( $16 \pm 2$  ч) при комнатной температуре ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ).  
**ПРИМЕЧАНИЕ:** осторожно удаляйте клейкую пленку во избежание перекрестного загрязнения.
9. Промывают каждую тест-полоску 3 раза (5 минут) 1 mL раствора для промывки (см. «Инструкции по промывке»).
10. Прибавляют 1 mL раствора конъюгата в каждую ячейку.
11. Инкубируют с конъюгатом: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 30 минут при комнатной температуре ( $18 - 25^{\circ}\text{C}$ ).
12. Промывают каждую тест-полоску 3 раза (5 минут) 1 mL раствора для промывки (см. «Инструкции по промывке»).
13. Прибавляют 1 mL раствора субстрата в каждую ячейку.
14. Инкубируют с субстратом: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 30 минут при комнатной температуре ( $18 - 25^{\circ}\text{C}$ ).
15. Удаляют жидкость. Прибавляют 1 mL раствора для остановки реакции в каждую ячейку.
16. Инкубируют с раствором для остановки реакции: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 10 - 30 минут при комнатной температуре ( $18 - 25^{\circ}\text{C}$ ).
17. Удаляют раствор для остановки реакции.
18. Пинцетом вынимают полоски из ячеек и помещают на абсорбирующую бумагу мембраной вверх. После полного высыхания полосок можно интерпретировать результаты. Чтобы ускорить процесс сушки, поместите полоски в сухой инкубатор при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  на

30 минут или используйте сушильное устройство с горячим воздухом в течение 1 минуты.

Проявленные полоски сохраняют цвет, если хранить их в темноте.

**- 2 и 3-часовая процедура инкубации образца**

В протоколе «2 и 3-часовой инкубации образца» следуют тем же 18 шагам, что и в процедуре «16-часовая инкубация образца», однако необходимо учесть следующие изменения в шагах 6 - 8 - 9 и 12.

Объем образца и контрольного образца увеличивается с 10 до 20  $\mu$ L (шаг 6), а время инкубации образца равно 2 и 3 часам (шаг 8).

Промывка после инкубации образца в 2-часовой процедуре изменяется на 3 раза по 10 минут, а в 3-часовой процедуре - на 3 раза по 6 минут (шаг 9); и наконец при 2 и 3-часовой инкубации вторую промывку выполняют 3 раза по 3 минуты (шаг 12).

Резюме анализов с выделенными различиями (выделено полужирным) представлено в следующей таблице:

|                                      | <b>16-часовая инкубация образца</b> | <b>2-часовая инкубация образца</b> | <b>3-часовая инкубация образца</b> |
|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Разбавитель образца</i>           | 1 mL                                | 1 mL                               | 1 mL                               |
| <i>Образец</i>                       | 10 $\mu$ L                          | <b>20 <math>\mu</math>L</b>        | <b>20 <math>\mu</math>L</b>        |
| <i>Контроль</i>                      | 10 $\mu$ L                          | <b>20 <math>\mu</math>L</b>        | <b>20 <math>\mu</math>L</b>        |
| <i>Тест-полоски LIA</i>              | 16 часов $\pm$ 2 часа               | <b>2 часа</b>                      | <b>3 часа</b>                      |
| <i>Промывка</i>                      | 1 mL/3 x 5 мин                      | <b>1 mL/3 x 10 мин</b>             | <b>1 mL/3 x 6 мин</b>              |
| <i>Готовый* конъюгат</i>             | 1 mL/30 мин                         | 1 mL/30 мин                        | 1 mL/30 мин                        |
| <i>Промывка</i>                      | 1 mL/3 x 5 мин                      | <b>1 mL/3 x 3 мин</b>              | <b>1 mL/3 x 3 мин</b>              |
| <i>Готовый* субстрат</i>             | 1 mL/30 мин                         | 1 mL/30 мин                        | 1 mL/30 мин                        |
| <i>Раствор для остановки реакции</i> | 1 mL/10 - 30 мин                    | 1 mL/10 - 30 мин                   | 1 mL/10 - 30 мин                   |

\*Готовый = Готовый к применению

**Инструкции по промывке**

- После инкубации на ночь, а также 2 и 3-часовой инкубации осторожно удаляют клейкую пленку с ячейек.
- Жидкость удаляют из ячейек пипеткой прикрепленной к вакуумному аспиратору, который содержит 5% раствор гипохлорита натрия в бутылке для отходов.
- Ячейку держат под углом, чтобы вся жидкость стекла к одной из сторон ячейки (сторона пластиковой подложки полосок)
- Прибавляют 1 mL разбавленного раствора для промывки в каждую ячейку и встряхивают на шейкере или качалке. Время встряхивания указано в процедуре анализа.
- Действия повторяют столько раз, сколько указано в процедуре.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Тест-полоски не должны высохнуть в перерыве между этапами промывки.
- Убедитесь, что при удалении жидкости вы не повредили поверхность тест-полоски.
- Всегда используйте чистое устройство для удаления жидкости с дезинфицированным наконечником во избежание перекрестного загрязнения.
- Чтобы тщательно промыть полоску, убедитесь, что она полностью погружена в раствор для промывки.
- При необходимости скорректируйте скорость шейкера или качалки.
- Убедитесь, что раствор для промывки не выливается за края ячейек.



***Инструкции по инкубации***

- Все этапы инкубации (образец, конъюгат, субстрат и раствор для остановки реакции), а также этапы промывки следует выполнять на шейкере или качалке (используйте качалку только для инкубации на ночь).
- Во время инкубации и промывки тест-полоска должна быть полностью погружена в жидкость и лежать мембраной вверх.
- Шейкер или качалка должны обеспечивать возвратно-поступательные движения (вперед-назад) полосок в ячейках (движение жидкости по поверхности полоски - важный аспект), не проливая жидкость за края ячеек.
- Скорость орбитального шейкера, продольного шейкера или качалки имеет решающее значение для окрашивания линий и оптимальной эффективности теста.

***Рекомендации***

Для орбитального шейкера:

- Диаметр кругового движения должен быть равен или более 13 мм.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 13 мм составляет 160 об/мин.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 24 мм составляет 90 об/мин.

Для качалки:

- Рекомендуемая скорость составляет 34 об/мин, если угол равен около 9°.

**Автоматические процедуры анализа**

Ознакомиться с инструментами и соответствующими протоколами можно через компанию «Фуджиребио Европа Н.В.» (см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

**Результаты*****Регистрация***

Расположение и название антигенов и контрольных веществ, нанесенных на полоску, показаны на рисунке 1.

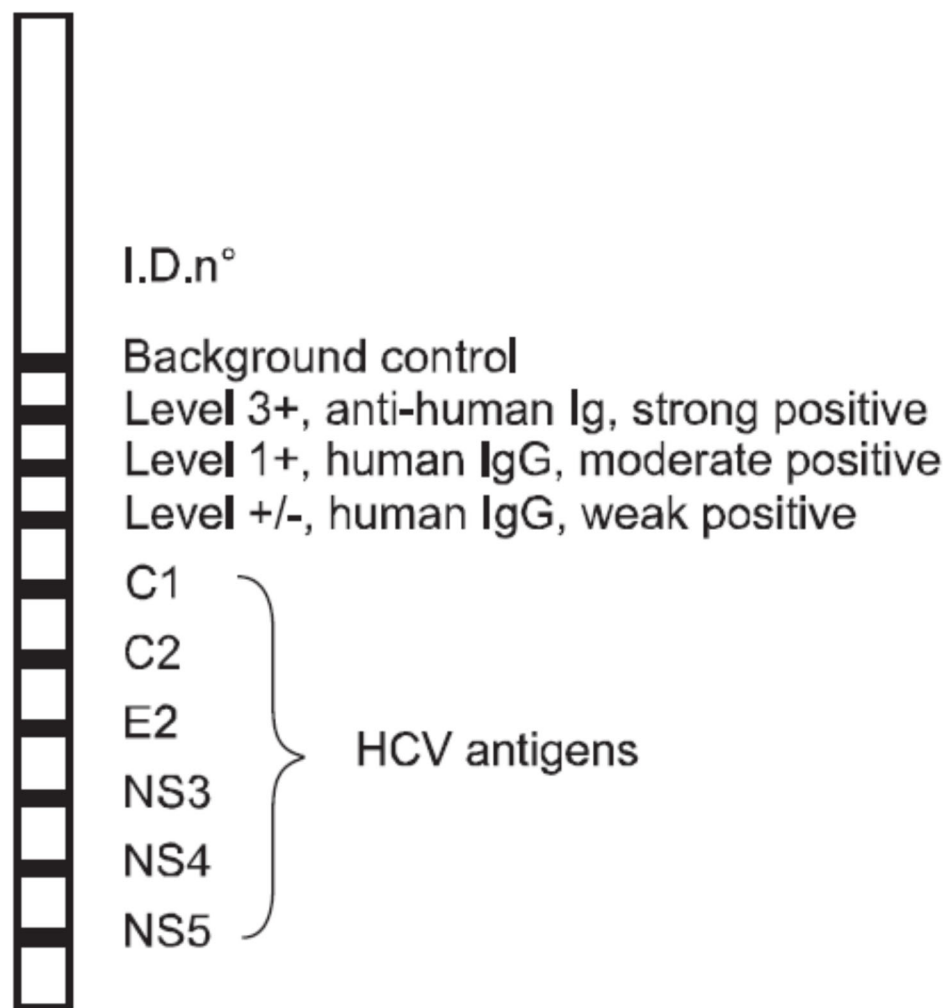


Рисунок 1: INNO-LIA HCV Score

Background control = фоновый контроль

Level 3+, anti-human Ig, strong positive = уровень 3+, антитела к иммуноглобулину человека, сильноположительный результат

Level 1+, human Ig, moderate positive = уровень 1+, иммуноглобулин человека, положительный результат

Level  $\pm$ , human Ig, weak positive = уровень  $\pm$ , иммуноглобулин человека, пороговый уровень

HCV antigens = антигены ВГС

Интенсивность реакции на контрольных линиях каждой тест-полоски нужна, чтобы присвоить рейтинг реактивности каждому антигену на этой полоске:

| Интенсивность реакционных линий антигенов (R) по сравнению с контрольными линиями |                   | Рейтинг |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------|
| Ниже $\pm$                                                                        | $R < \pm$         | -       |
| Равно $\pm$                                                                       | $R = \pm$         | $\pm$   |
| Выше $\pm$ и ниже или равно 1+                                                    | $\pm < R \leq 1+$ | 1+      |
| Выше 1+, но ниже 3+                                                               | $1+ < R < 3+$     | 2+      |
| Равно 3+                                                                          | $R = 3+$          | 3+      |
| Выше 3 +                                                                          | $R > 3+$          | 4+      |

Рейтинг реактивности нужно присваивать на каждой полосе отдельно. Для правильной интерпретации используйте шаблон. Линии идентифицируют, сопоставляя контрольную линию 3+ на окрашенной тест-полоске с соответствующей контрольной линией 3+ на шаблоне.

### **Валидация**

Перед регистрацией результатов анализа необходимо проверить достоверность контрольных уровней на ка полоске согласно следующим критериям.

*Валидация отдельной полоски:*

1. Контрольные уровни 1+ и  $\pm$ , а также высокий уровень положительного контроля 3+ должны быть видны.
2. Интенсивность контрольного уровня 3+ должна быть выше, чем у уровня 1+, а интенсивность уровня 1+ должна быть выше, чем у уровня  $\pm$ .
3. Линия фонового контроля должна иметь отрицательный рейтинг.

Если анализ включает положительный и отрицательный контроль, необходимо проверить пригодность тест-полосок для положительного и отрицательного контроля относительно следующих критериев до регистрации результатов анализа.

1. Полоска для положительного контроля должна показывать реакцию как минимум 1+ на линиях антигенов C1, C2, NS3 и NS4. Линия антигенов E2 и NS5 может иметь отрицательный рейтинг.
2. Тест-полоска для отрицательного контроля должна давать отрицательный результат (никаких реакций или хотя бы слабее, чем контрольный уровень  $\pm$  на всех линиях антигенов к ВГС).

### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Полоса должна высохнуть до конца во избежание ошибочной интерпретации из-за бледных полос, появляющихся после добавления раствора для остановки реакции.
- Не кладите бумагу на влажные тест-полоски.
- Бледные контрольные линии можно получить при анализе образца с высоким уровнем иммуноглобулина G (выше нормального диапазона иммуноглобулина G).
- В случае неожиданных результатов или предполагаемых ошибок в процедуре анализа, следует повторить анализ и снова включить в него положительный и отрицательный контроль.

### **Интерпретация результатов**

Обширные исследования показали, что результаты можно интерпретировать следующим образом:

Образец дал **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ** результат анализа на ВГС:

- Если все линии антигенов к ВГС имеют отрицательный рейтинг реактивности
- Если только одна линия антигенов к ВГС имеет реактивность  $\pm$ , за исключением случаев, когда наблюдается реактивность NS3

Образец дал **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ** результат анализа на ВГС:

- Если на двух и более линиях антигенов к ВГС реактивность равна  $\pm$  минимум или выше

Образец дал **НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ** результат анализа на ВГС:

- Если одна линия антигена к ВГС имеет рейтинг реактивности 1 + или выше
- Если рейтинг реактивности на линии NS3 составляет  $\pm$  или выше, а все остальные линии антигенов дают отрицательный результат.

**Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных заболеваний**

Программное обеспечение LiRAS для инфекционных заболеваний помогает интерпретировать результаты LIA анализа.

Чтобы получить последнюю версию ПО, обратитесь к местному дистрибьютору.

Внимание: при автоматизированной интерпретации результатов обязательно учитывайте ограничения процедуры, указанных ниже.

**Ограничения процедуры**

- Для оптимальной эффективности анализа необходимо строго следовать протоколу.
- Образцы с реакцией  $\pm$  или выше только на линии NS3 могут указывать на ВГС сероконверсию. Поэтому такой результат считают неопределенным.
- При получении НЕОПРЕДЕЛЕННОГО результата рекомендуем снова взять у больного образец спустя несколько недель и провести анализ ещё раз.
- Образец, дающий положительную реакцию на линии фонового контроля, может дать перекрестные реакции с линиями других антигенов к ВГС. Результат анализа такого образца нельзя считать положительным на антитела к ВГС.
- Если реактивность видна на следующих линиях антигенов (независимо от реактивности на линии фонового контроля): C1, C2, E2, NS4 и NS5 -, возможно имела место неспецифическая реактивность с одним из типов антител к стрептавидину. В таком случае тест-полоска считается НЕПРИГОДНОЙ. Рекомендуется провести дополнительные анализы другими методами.
- Антитела к ВГС можно не обнаружить на ранних стадиях заболевания.
- При гемодиализе антитела можно не обнаружить.
- Разведенные образцы могут дать ошибочные результаты.
- Прежде чем начинать терапию или инвазивные процедуры у испытуемых с положительным результатом на антитела к ВГС, необходимо более подробно изучить параметры оценки поражения печени и положительного результата анализа на РНК ВГС.
- Образцы некоторых больных могут давать одинаковую реактивность на всех линиях антигенов (в некоторых случаях вместе с линией фонового контроля) тест-полоски (так называемые буферные линии). Если реактивность имеет одинаковую интенсивность около порогового уровня (рейтинг  $\pm$ ), результаты необходимо интерпретировать следующим образом:
  - Равная реактивность всех линий антигенов (в некоторых случаях вместе с линией фонового контроля) между пороговым уровнем (рейтинг  $\pm$ ) и рейтингом 1+ считается НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫМ результатом. В таком случае рекомендуется провести дополнительные анализы другими методами.
  - Равная реактивность всех линий антигенов ниже порогового уровня (рейтинг  $\pm$ ) считается ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ результатом при условии, что реактивность линии фонового контроля также находится ниже порогового уровня.
  - Равная реактивность всех линий антигенов выше уровня 1+ считается ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ результатом при условии, что реактивность линии фонового контроля находится ниже порогового уровня.

**Эффективность анализа****Чувствительность****Сероконверсионные/ низкотитражные панели**

Результаты 2-часовой инкубации образца и 16-часовой инкубации вручную с помощью системы «INNO-LIA HCV Score» и «Auto-LIA» получены внутри компании по 13 сероконверсионным панелям BBI (PHV 904 - 916), 2 низкотитражным панелям BBI (PHV103 и 204) и панели SFTS94. 13 сероконверсионных панелей начинались с отрицательного образца крови и имели короткие

интервалы между заборами крови. Полученные результаты сравнили с результатами, полученными с помощью «CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA» (таблица 1 и таблица 2).

Таблица 1: Обзор результатов сероконверсионных панелей BBI

| Анализ                                               | Результаты сероконверсионных панелей по сравнению с «Chiron RIBA HCV 3.0 SIA» |       |       |                       |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-----------------------|
|                                                      | Раньше                                                                        | Равно | Позже | Остался отрицательным |
| «INNO-LIA HCV Score» (2-часовой анализ с «Auto-LIA») | 7                                                                             | 4     | 1     | 1                     |
| «INNO-LIA HCV Score» (16-часовой анализ вручную)     | 7                                                                             | 4     | 1     | 1                     |

Таблица 2: Обзор результатов низкотитражных панелей BBI и панели SFTS94

| Анализ                                               | Количество выявленных положительных образцов/панель |         |         |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------|---------|
|                                                      | PHV 103                                             | PHV 204 | SFTS 94 |
| «INNO-LIA HCV Score» (2-часовой анализ с «Auto-LIA») | 10                                                  | 18      | 38      |
| «INNO-LIA HCV Score» (16-часовой анализ вручную)     | 12                                                  | 20      | 41      |
| «CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA»                            | 12                                                  | 23      | 31      |

#### ВГС-положительные образцы

В общей сложности 257 образцов, полученных от ВГС-инфицированных больных и давших положительный результат 2 скрининговых анализов, прошли внутреннюю 2-часовую инкубацию с помощью «INNO-LIA HCV Score» и «Auto-LIA». Все образцы дали положительный результат за исключением одного образца, который дал неопределенный результат.

Кроме того, 109 ВГС-генотипированных образца прошли внутреннюю 2-часовую инкубацию с помощью «INNO-LIA HCV Score» ВГС и «Auto-LIA».

Данный комплект образцов охватывал все основные генотипы ВГС (таблица 3).

Таблица 3. Распределение генотипов протестированных ВГС-положительных образцов

| Генотип протестированных образцов |        | Кол-во протестированных образцов |
|-----------------------------------|--------|----------------------------------|
| 1                                 |        | 30                               |
|                                   | 1a     | 15                               |
|                                   | 1b     | 15                               |
| 2                                 |        | 21                               |
| 3a                                |        | 21                               |
| 4                                 |        | 21                               |
|                                   | 4      | 1                                |
|                                   | 4a     | 15                               |
|                                   | 4 не a | 5                                |
| 5                                 |        | 6                                |
| 6                                 |        | 10                               |
| <b>Всего</b>                      |        | <b>109</b>                       |

Все 109 положительных образцов дали положительный результат.

В целом, учитывая один неопределенный результат, можно говорить о 100% чувствительности метода анализа (366/366; 95% ДИ [99,0%; 100,0%]).

**Специфичность**Доноры крови

В общей сложности образцы 400 доноров крови с отрицательным результатом анализа на антитела к ВГС прошли внутреннюю 6-часовую инкубацию вручную.

После первого тестирования 377 образцов получили отрицательный результат и 22 - неопределенный результат, а один образец дал положительный результат, следовательно исходная специфичность равна 94,3% (377/400; 95% ДИ [91,5%;96,1%]). Образец крови, первоначально давший положительный результат, дал отрицательный результат после повторного анализа в 2 экземплярах, следовательно специфичность после повторного анализа составила 94,5% (378/400; 95% ДИ [91,8%; 96,3%]).

Клинические образцы

205 клинических образцов прошли внутреннюю 16-часовую инкубацию вручную. 189 из них получили отрицательный результат, 11 - неопределенный, а 5 - положительный. Три из этих 5 образцов дали отрицательный результат после повторного тестирования в 2 экземплярах.

Один из двух оставшихся образцов дал положительный результат после повторного тестирования, а один оставшийся дал неопределенный результат. Оба образца дали отрицательный результат при анализе «Ortho HCV 3.0 ELISA» с усиленным SAVE и при анализе «INNOTEST HCV Ab IV». Один из этих двух образцов также проанализировали на «CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA» и получили отрицательный результат. Следовательно при данном комплекте образцов первоначальная специфичность равнялась 92,2% (189/205; 95% ДИ [87,7%; 95,1%]), в то время как специфичность после повторного тестирования составила 93,7% (192/205; 95% ДИ [89,5%; 96,3%]).

Потенциально проблемные образцы

205 потенциально проблемных образцов прошли внутреннюю 16-часовую инкубацию вручную. 127 образцов дали отрицательный результат, 9 - неопределенный, а один - положительный. При повторном тестировании в 2 экземплярах, этот образец дал положительный и неопределенный результаты соответственно. Тот же образец дал отрицательный результат на «Ortho HCV 3.0 ELISA» с усиленным SAVE, на «INNOTEST HCV Ab IV» и на «CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA».

Следовательно при данном комплекте образцов специфичность равнялась 92,7% (127/137; 95% ДИ [87,1%; 96,0%]).

**Воспроизводимость**

Два аналитика протестировали набор из 13 ВГС-положительных образцов, а также один положительный и один отрицательный контроль с помощью 3 различных партий продукции и Auto-LIA в ходе 2-часовой инкубации, а третий аналитик протестировал тот же набор с помощью одной из данных партий продукции. Анализы с помощью различных партий тест-полосок, выполненные разными аналитиками дали аналогичные результаты.

**Товарные знаки**

«INNO-LIA», «LiRAS», и «Auto-LIA» - товарные знаки компании «Фуджиребио Европа Н.В.», зарегистрированные в США и других странах.

**INNO-LIA HIV I/II Score**

Изменения выделены серым

Производитель:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologiepark 6  
9052 Gent  
Belgium  
Тел.: +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

Дистрибьютор:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел.: +32 9 329 13 29  
Факс: +32 9 329 19 11  
[customer.support@fujirebio-europe.com](mailto:customer.support@fujirebio-europe.com)  
Fujirebio Germany GmbH  
Тел.: +49 511 857 3931  
Факс: +49 511 857 3921  
[germany@fujirebio-europe.com](mailto:germany@fujirebio-europe.com)  
Fujirebio France SARL  
Тел.: +33 1 69 07 48 34  
Факс: +33 1 69 07 45 00  
[france@fujirebio-europe.com](mailto:france@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Italia S.r.l.

Тел.: +39 06 965 28 700

Факс: +39 06 965 28 765

[italy@fujirebio-europe.com](mailto:italy@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Iberia S.L.

Тел.: +34 93 270 53 00

Факс: +34 93 270 53 17

[spain@fujirebio-europe.com](mailto:spain@fujirebio-europe.com)[www.e-labeling.eu/FRI78352](http://www.e-labeling.eu/FRI78352)**ЕВРОПА**

GR 00 800 161 220 577 99  
IS 800 8996  
LT 880 030 728  
RO 0800 895 084  
SK 0800 606 287  
TR 0800 142 064 866  
LI +31 20 796 5692  
MT +31 20 796 5693  
EE 0800-0100 567  
**не ЕВРОПА** **+31 20 794 7071**  
US +1 855 236 0910  
CA +1 855 805 8539  
AR, BR, CO, UY, AU, +800 135 79 135  
NZ, RU

**+800 135 79 135**

8:00 – 17:00 GMT+1

| ПН | ВТ | СР | ЧТ | ПТ | СБ | ВС |
|----|----|----|----|----|----|----|
| X  | X  | X  | X  | X  |    |    |

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Условные обозначения .....                                                                 | 2         |
| Назначение.....                                                                            | 3         |
| Принцип анализа .....                                                                      | 3         |
| Реактивы.....                                                                              | 4         |
| <i>Описание, подготовка к применению и рекомендуемые условия хранения .....</i>            | <i>4</i>  |
| Необходимые материалы, не входящие в комплект .....                                        | 5         |
| Безопасность и окружающая среда .....                                                      | 5         |
| Образец (отбор и обработка).....                                                           | 6         |
| Замечания и меры предосторожности.....                                                     | 6         |
| Действия, выполняемые вручную .....                                                        | 7         |
| <i>Инструкции по промывке .....</i>                                                        | <i>8</i>  |
| <i>Инструкции по инкубации .....</i>                                                       | <i>9</i>  |
| Автоматические процедуры анализа.....                                                      | 9         |
| Результаты .....                                                                           | 9         |
| <i>Регистрация .....</i>                                                                   | <i>9</i>  |
| <i>Валидация.....</i>                                                                      | <i>10</i> |
| <i>Интерпретация результатов.....</i>                                                      | <i>10</i> |
| <i>Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных заболеваний .....</i> | <i>11</i> |
| Ограничения процедуры.....                                                                 | 11        |
| Эффективность анализа .....                                                                | 12        |
| <i>Чувствительность .....</i>                                                              | <i>12</i> |
| <i>Специфичность .....</i>                                                                 | <i>13</i> |
| <i>Воспроизводимость .....</i>                                                             | <i>13</i> |
| Товарные знаки .....                                                                       | 13        |

### Условные обозначения



Производитель



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Код серии



Номер по каталогу

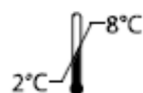


Использовать до



См. инструкцию по применению

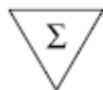




Температурные границы



Биологические риски



Содержит достаточное количество для <n> тестов



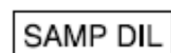
Конъюгат



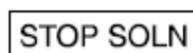
Отрицательный контроль



Положительный контроль



Разбавитель образца



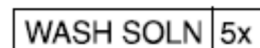
Раствор для остановки реакции



Тест-полоски



Субстрат BCIP/NBT



Раствор для промывки 5x



Опасно!



Осторожно!



Линейный иммуноанализ

### Назначение

Тест-систему INNO-LIA HIV I/II Score используют, чтобы подтвердить наличие антител к 1 типу вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1), включая группу О, и ко 2 типу ВИЧ (ВИЧ-2) в сыворотке или плазме крови человека. INNO-LIA HIV I/II Score также позволяет дифференцировать между ВИЧ-1 и ВИЧ-2 инфекцией. Данную систему рекомендуется использовать для дополнительного анализа реактивных образцов, найденных в ходе скрининга на антитела к ВИЧ.

### Принцип анализа

Рекомбинантные белки и синтетические пептиды ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также синтетический пептид ВИЧ-1 группы О в виде дискретных линий нанесены на нейлоновые тест-полоски с пластиковыми подложками.

Пять антигенов ВИЧ-1: sgp120 и gp41, выявляющие специфические антитела к ВИЧ-1, и p31, p24, p17, которые также могут вступить в перекрестные реакции с антителами к ВИЧ-2. Пептиды ВИЧ-1 из группы О нанесены на линию ВИЧ-1 sgp120. Антигены gp36 и sgp105, нанесенные на полоски, выявляют антитела к ВИЧ-2.

Помимо антигенов к ВИЧ, на каждую полоску нанесены четыре контрольных линии: фоновый контроль, пороговая линия  $\pm$  (иммуноглобулин G человека), 1+ положительный контроль (иммуноглобулин человека) и один сильный 3+ положительный контроль, который также играет роль контроля нанесения образца (антитела к иммуноглобулину G человека INNO-LIA HIV I/II Score работает по принципу иммуоферментного анализа (ИФА). Испытуемый образец инкубируют в тестовой ячейке вместе с полоской, покрытой несколькими антигенами. Если в образце присутствуют антитела к ВИЧ, они образуют связи с определенными линиями антигенов

к ВИЧ на полоске. Затем прибавляют козы антитела к иммуноглобулину G человека, меченые щелочной фосфатазой, которые образуют связи с любыми образовавшимися комплексами антигенов/антител к ВИЧ. В результате инкубирования с (BCIP/NBT) ферментным субстратом получают темно-коричневое окрашивание, которое пропорционально количеству антител к ВИЧ в образце. Реакцию с окрашиванием прерывают серной кислотой.

Если образец не содержит ВИЧ-специфических антител, меченые антитела к иммуноглобулину человека не образуют связи с комплексом антигенов/антител. В таком случае получают бледный стандартный фоновый цвет.

### Реактивы

#### *Описание, подготовка к применению и рекомендуемые условия хранения*

- При температуре 2-8°C до и после вскрытия все реагенты стабильны до истечения срока годности. Реагенты не замораживать. Не используйте комплект после истечения срока годности.
- Все реагенты и пластиковую пробирку с тест-полосками необходимо вынуть из коробки и дать нагреться до комнатной температуры (от 18 до 25°C) за 60 минут до использования. Все реагенты и пробирку с тест-полосками необходимо убрать в холодильник (2-8°C) сразу после использования.
- Изменения внешнего вида реагентов в комплекте могут указывать на то, что они нестабильны или пришли в негодность.

Реагенты в комплекте:

| <u>Компонент</u>                          | <u>Количество</u> | <u>Ссылка</u> | <u>Описание</u>                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------|-------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Тест-полоски                              | 20                | 57330         | 20 тест-полосок INNO-LIA, покрытых антигеном, для анализа на ВИЧ.                                                                                                                                                                         |
| Разбавитель образца                       | 30 mL             | 57304         | Обозначенный цветом (зеленый) фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы из бычьего белка и 0,3% хлорацетамид в качестве консерванта.                                                                            |
| Готовый к использованию конъюгат          | 45 mL             | 57301         | Обозначенные цветом (красный) козы антитела к иммуноглобулину G человека с щелочной фосфатазой в трис-буфере, содержащем стабилизаторы из бычьего белка, детергент и 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамид в качестве консерванта. |
| Отрицательный контроль                    | 0,12 mL           | 57307         | Базовый матрикс с 0,01% метилизотиазолоном/<0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                                                                                   |
| Положительный контроль                    | 0,12 mL           | 57306         | Инактивированная сыворотка крови человека, положительная на антитела к ВИЧ с 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                       |
| Готовый к использованию субстрат BCIP/NBT | 45 mL             | 57302         | 5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат/нитросиний тетразолий в субстрате диметилформимида с 0,01% метилизотиазолоном/ <0,1% хлорацетамидом в качестве консерванта.                                                                                |
| Раствор для остановки реакции             | 45 mL             | 57303         | 0,1 mol/L серной кислоты.                                                                                                                                                                                                                 |
| Раствор для промывки                      | 45 mL             | 57299         | Обозначенный цветом (голубой) трис-буфер, содержащий хлорид натрия, детергент и 0,02% бром-нитродидоксан в качестве консерванта для разведения дистиллированной водой с получением пятикратного объема. Разведенный                       |

|                                        |   |   |                                                                                       |
|----------------------------------------|---|---|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Инкубационный лоток                    | 2 | - | раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при 2 - 8°C.<br>По 11 ячеек в каждом |
| Клейкая пленка для запечатывания ячеек | 5 | - |                                                                                       |
| Бланк для регистрации данных           | 1 | - | Для хранения обработанных полосок.                                                    |
| Памятка                                | 1 | - | Для идентификации прореагировавших линий с антигенами.                                |

#### Необходимые материалы, не входящие в комплект

- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками для отбора 10 µL , 20-200 µL и 200-1000 µL соответственно.
- Орбитальный шейкер или качалка (см. «Инструкции по инкубации»).
- Центрифуга или аналогичный аппарат.
- Градуированные химические стаканы: 10, 25, 50 и 100 mL.
- Пинцет для работы с тест-полосками.
- Таймер.
- Опционально:
  - Фен (обычный для волос) или сухой инкубатор при 37°C.
  - Многоканальная пипетка и одноразовые флаконы для введения разбавителя образца, конъюгата, субстрата, раствора для остановки реакции и раствора для промывки.
  - Вакуумный аспиратор, содержащий 5% раствор гипохлорита натрия в бутылке для отходов.

#### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах см. паспорт безопасности (Safety Data Sheet - SDS) и маркировку на продукции. Последняя версия паспорта безопасности доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Warning**

**SAMP DIL**

Содержит 2-хлорацетамид  
 H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P362+P364



**Danger**

**SUBS BCIP/NBT 100x**

Содержит N,N-диметилформамид  
 H360D P280 P201 P308+P313 P303+P361+P353 P305+P351+P338

#### Предупреждения об опасности

H317 Может вызывать аллергические кожные реакции  
 H360D Может нанести вред плоду

#### Меры предосторожности

P201 Перед использованием необходимо получить специальные инструкции.  
 P261 Не вдыхать пары/ аэрозоль.  
 P280 Необходимо надеть защитные перчатки/защитную одежду /защитные очки/респиратор.

- P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: следует немедленно промыть большим количеством воды/...
- P303+P361+P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Следует немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или под душем].
- P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течении нескольких минут. Извлечь контактные линзы, если таковые имеются и есть возможность их извлечь. Продолжить промывание.
- P308+P313 При попадании под воздействие материала или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью.
- P333+P313 При раздражении кожи или сыпи: обратиться за медицинской помощью.
- P362+P364 Загрязненную одежду снять и постирать перед повторным использованием
- До выполнения данного анализа необходимо допускать только персонал, прошедший надлежащую подготовку.
  - При работе с образцами, положительным и отрицательным контролем следует всегда учитывать потенциальный риск инфицирования.
  - Положительный контроль дал отрицательный результат анализа на антитела к ВГС и ВГВ. Отрицательный контроль дал отрицательный результат анализа на антитела к ВИЧ-1/ВИЧ-2, ВГС и ВГВ. Ни один метод анализа не может полностью обезопасить от передачи инфекционного материала из образцов крови. Поэтому при работе с любыми компонентами крови и биологическими материалами следует учитывать потенциальный риск инфицирования и действовать соответственно.

Все компоненты крови и биологические материалы следует утилизировать в соответствии с одной из установленных процедур, представленных ниже.

- Обработать в автоклаве в течение как минимум 15 минут при 121°C.
- Сжечь одноразовый материал.
- Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия, чтобы итоговая концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия. Оставить постоять на ночь перед утилизацией.

**ВНИМАНИЕ:** прежде чем добавить гипохлорит натрия, нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.

- Ношение индивидуальных средств защиты обязательно: перчатки и защитные очки обязательны при работе с опасными или инфицированными веществами.
- Утилизировать отходы следует в соответствии с руководством по утилизации отходов в организации. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные экологические нормы.
- Не удаляйте раствор для остановки реакции в бутылку для отходов, где находится гипохлорит натрия.

#### **Образец (отбор и обработка)**

- INNO-LIA HIV I/II Score работает с сывороткой или плазмой крови человека в пробирках с цитратом, гепарином или ЭДТА в качестве коагулянта.
- Перед хранением, сыворотку или плазму необходимо отделить от сгустков крови или кровяных клеток в центрифуге.
- Образцы следует хранить при температуре 2-8 °C. Для хранения в течение более одной недели необходимо замораживать образец при -20°C или ниже.
- Не используйте образцы, обработанные термически.
- Многократно (более 3 раз) замороженные и размороженные образцы могут давать ошибочные результаты.

#### **Замечания и меры предосторожности**

- Не смешивайте реагенты с разными серийными номерами.

- Замерзшие реагенты (например, хранившиеся слишком близко к холодоэлементу) могут давать ошибочные результаты!
- **Убедитесь, что в ходе анализа вы используете правильный объем образца и время промывки.**
- Обеспечьте микробиологическую чистоту реагентов.
- Перед использованием убедитесь в однородности образцов и контрольных образцов.
- Не прикасайтесь к мембране полосок. Всегда берите полоски за пластиковую подложку.
- Для каждого образца используйте новый наконечник пипетки.
- Убедитесь, что тест-полоска лежит в ячейке **мембраной вверх**.
- Все этапы инкубации следует выполнять с помощью орбитального шейкера или качалки (используйте качалку только для инкубации на ночь). Необходимо встряхивать растворы с полосками, чтобы получить равномерное окрашивание и добиться максимальной чувствительности. При встряхивании поверхность полоски должна быть полностью погружена в раствор.
- Заклейте ячейки специальной пленкой, чтобы во полоски не высохли время инкубации на ночь.
- Неиспользованные и использованные полоски следует хранить в защищенном от яркого света и сильного тепла месте.
- Данный комплект должны использовать только работники, прошедшие обучение по работе в клинической лаборатории.
- Повторное использование полосок или ячеек ведет к ошибочным результатам анализа.
- Использование разрезанных полосок ведет к ошибочной интерпретации результатов.

#### **Действия, выполняемые вручную**

Пожалуйста, прочитайте примечания и меры предосторожности перед выполнением анализа.

#### **- 16 - часовая инкубация**

1. Возьмите необходимое количество ячеек для анализа.
2. В ходе каждой процедуры тестирования можно проанализировать положительный и отрицательный контроль в целях внутреннего контроля.
3. Промаркируйте ячейки для образца (и контрольного образца) и поместите на лоток.
4. Убедитесь, что образец больного или контрольный образец не попал в соседние ячейки. При работе вручную осторожно добавляйте в ячейки образец больного, контрольный образец и реагенты во избежание перекрестного загрязнения.
5. Далее в каждую испытываемую ячейку прибавляют **1 mL разбавителя образца**.
6. Прибавляют 10  $\mu$ L образца или контрольного образца в ячейку с соответствующей маркировкой.
7. Вынимают необходимое количество тест-полосок из контейнера и помещают по одной полоске в каждую из ячеек. С помощью пинцета тест-полоску помещают в ячейку мембраной вверх.  
**НЕОБХОДИМО ПОЛНОСТЬЮ ПОГРУЗИТЬ ПОЛОСКУ В ЖИДКОСТЬ.**
8. **Заклеивают** ячейки специальной пленкой (см. «Замечания и меры предосторожности»). **Инкубируют** образцы: помещают лоток на шейкер или качалку (см. «Инструкции по инкубации») и встряхивают в течение ночи ( $16 \pm 2$  ч) при комнатной температуре ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ).  
**ПРИМЕЧАНИЕ:** осторожно удаляйте клейкую пленку во избежание перекрестного загрязнения.
9. **Промывают** каждую тест-полоску **3 раза** (5 минут) **1 mL раствора для промывки** (см. «Инструкции по промывке»).
10. Прибавляют **1 mL раствора конъюгата** в каждую ячейку.
11. **Инкубируют** с конъюгатом: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 30 минут при комнатной температуре ( $18 - 25^{\circ}\text{C}$ ).

12. **Промывают** каждую тест-полоску **3 раза** (5 минут) **1 mL раствора для промывки** (см. «Инструкции по промывке»).
  13. Прибавляют **1 mL раствора субстрата** в каждую ячейку.
  14. **Инкубируют** с субстратом: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).
  15. Удаляют жидкость. Прибавляют **1 mL раствора для остановки реакции** в каждую ячейку.
  16. **Инкубируют** с раствором для остановки реакции: помещают лоток на шейкер или качалку и встряхивают в течение 10 - 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).
  17. Удаляют раствор для остановки реакции.
  18. Пинцетом **вынимают** полоски из ячеек и помещают на абсорбирующую бумагу мембраной вверх. После полного высыхания полосок можно интерпретировать результаты. Чтобы ускорить процесс сушки, поместите полоски в сухой инкубатор при температуре 37°C на 30 минут или используйте сушильное устройство с горячим воздухом в течение 1 минуты. Проявленные полоски сохраняют цвет, если хранить их в темноте.
- **3-часовая инкубация образца**
  - В протоколе «3-часовой инкубации образца» следуют тем же 18 шагам, что и в процедуре «16-часовая инкубация образца», однако необходимо учесть следующие изменения в шагах 6 - 8 - 9 и 12. Объем образца и контрольного образца увеличивается с 10 до 20 µL (шаг 6), а время инкубации образца равно 2 и 3 часам (шаг 8). Промывка после инкубации образца в 3-часовой процедуре изменяется на 3 раза по 6 минут (шаг 9); и наконец при 3-часовой инкубации вторую промывку выполняют 3 раза по 3 минуты (шаг 12).

Резюме анализов с выделенными различиями (выделено полужирным) представлено в следующей таблице:

|                                      | <b>16-часовая инкубация образца</b> | <b>3-часовая инкубация образца</b> |
|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Разбавитель образца</i>           | 1 mL                                | 1 mL                               |
| <i>Образец</i>                       | 10 µL                               | <b>20 µL</b>                       |
| <i>Контроль</i>                      | 10 µL                               | <b>20 µL</b>                       |
| <i>Тест-полоски LIA</i>              | 16 часов ± 2 часа                   | <b>3 часа</b>                      |
| <i>Промывка</i>                      | 1 mL/3 x 5 мин                      | 1 mL/ <b>3 x 6 мин</b>             |
| <i>Готовый конъюгат</i>              | 1 mL/30 мин                         | 1 mL/30 мин                        |
| <i>Промывка</i>                      | 1 mL/3 x 5 мин                      | 1 mL/ <b>3 x 3 мин</b>             |
| <i>Готовый субстрат</i>              | 1 mL/30 мин                         | 1 mL/30 мин                        |
| <i>Раствор для остановки реакции</i> | 1 mL/10 - 30 мин                    | 1 mL/10 - 30 мин                   |

#### **Инструкции по промывке**

- После ночной инкубации, а также 3-часовой инкубации осторожно удаляют клейкую пленку с ячеек.
- Жидкость удаляют из ячеек пипеткой прикрепленной к вакуумному аспиратору, который содержит 5% раствор гипохлорита натрия в бутылке для отходов. Ячейку держат под углом, чтобы вся жидкость стекла к одной из сторон ячейки (сторона пластиковой подложки полосок)
- Прибавляют 1 mL разбавленного раствора для промывки в каждую ячейку и встряхивают на шейкере или качалке. Время встряхивания указано в процедуре анализа.
- Действия повторяют столько раз, сколько указано в процедуре.

#### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Тест-полоски не должны высохнуть в перерыве между этапами промывки.
- Убедитесь, что при удалении жидкости вы не повредили поверхность тест-полоски.

- Всегда используйте чистое устройство для удаления жидкости с дезинфицированным наконечником во избежание перекрестного загрязнения.
- Чтобы тщательно промыть полоску, убедитесь, что она полностью погружена в раствор для промывки.
- При необходимости скорректируйте скорость шейкера или качалки.
- Убедитесь, что раствор для промывки не выливается за края ячеек.

### **Инструкции по инкубации**

- Все этапы инкубации (образец, конъюгат, субстрат и раствор для остановки реакции), а также этапы промывки следует выполнять на шейкере или качалке (**используйте качалку только для инкубации на ночь**).
- Во время инкубации и промывки тест-полоска должна быть полностью погружена в жидкость и лежать мембраной вверх.
- Шейкер или качалка должны обеспечивать возвратно-поступательные движения (вперед-назад) полосок в ячейках (движение жидкости по поверхности полоски - важный аспект), не проливая жидкость за края ячеек.
- Скорость орбитального шейкера, продольного шейкера или качалки имеет решающее значение для окрашивания линий и оптимальной эффективности теста.

### **Рекомендации**

Для орбитального шейкера:

- Диаметр кругового движения должен быть равен или более 13 мм.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 13 мм составляет 160 об/мин.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 24 мм составляет 90 об/мин.

Для качалки:

- Рекомендуемая скорость составляет 34 об/мин, если угол равен около 9°.

### **Автоматические процедуры анализа**

Ознакомиться с инструментами и соответствующими протоколами можно через компанию «Фуджиребио Европа Н.В.» (см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

### **Результаты**

#### **Регистрация**

Расположение и название антигенов и контрольных веществ, нанесенных на полоску:

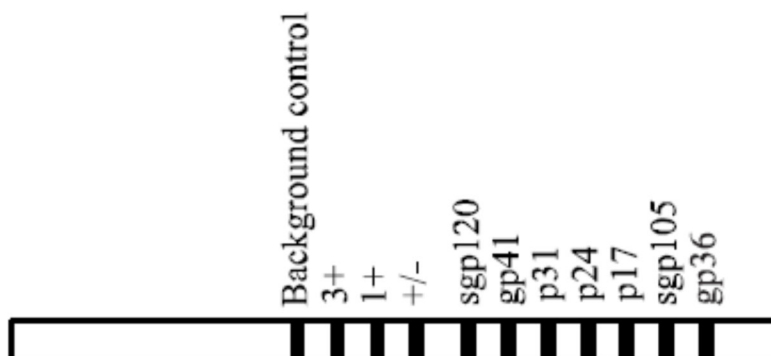


Рисунок 1: INNO-LIA HIV I/II Score

Background control = фоновый контроль

Интенсивность реакции на контрольных линиях каждой тест-полоски нужна, чтобы присвоить рейтинг реактивности каждому антигену на этой полоске:

| <b>Интенсивность реакции на линии антигена (R)</b> |                   | <b>Рейтинг</b> |
|----------------------------------------------------|-------------------|----------------|
| Ниже $\pm$                                         | $R < \pm$         | -              |
| Равно $\pm$                                        | $R = \pm$         | $\pm$          |
| Выше $\pm$ и ниже или равно 1+                     | $\pm < R \leq 1+$ | 1+             |
| Выше 1+, но ниже 3+                                | $1+ < R < 3+$     | 2+             |
| Равно 3+                                           | $R = 3+$          | 3+             |
| Выше 3+                                            | $R > 3+$          | 4+             |

Рейтинг реактивности нужно присваивать на каждой полосе отдельно. Для правильной интерпретации используйте памятку. Линии идентифицируют, сопоставляя контрольную линию 3+ на окрашенной тест-полоске с соответствующей контрольной линией 3+ на памятке.

### **Валидация**

Перед регистрацией результатов анализа необходимо проверить достоверность контрольных уровней на каждой полоске согласно следующим критериям.

*Валидация отдельной полоски:*

1. Контрольные уровни 1+ и  $\pm$ , а также высокий уровень положительного контроля 3+ должны быть видны.
2. Интенсивность контрольного уровня 3+ должна быть выше, чем у уровня 1+, а интенсивность уровня 1+ должна быть выше, чем у уровня  $\pm$ .
3. Линия фонового контроля должна иметь отрицательный рейтинг (интенсивность ниже  $\pm$  контрольной линии).

Если анализ включает положительный и отрицательный контроль, необходимо проверить пригодность тест-полосок для положительного и отрицательного контроля относительно следующих критериев до регистрации результатов анализа.

1. Полоска для положительного контроля должна показывать реакцию как минимум 1+ на линиях sgp120, gp41, p31, p24 и gp36. Линия антигенов p17 и sgp105 может иметь отрицательный рейтинг.
2. Тест-полоска для отрицательного контроля должна давать отрицательный результат (никаких реакций или хотя бы слабее, чем контрольный уровень  $\pm$ ) на всех линиях антигенов к ВИЧ.

### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Полоса должна высохнуть до конца во избежание ошибочной интерпретации из-за бледных полос, появляющихся после добавления раствора для остановки реакции.
- Не кладите бумагу на влажные тест-полоски.
- Бледные контрольные линии можно получить при анализе образца с высоким уровнем иммуноглобулина G (выше нормального диапазона иммуноглобулина G).
- В случае неожиданных результатов или предполагаемых ошибок в процедуре анализа, следует повторить анализ и снова включить в него положительный и отрицательный контроль.

### **Интерпретация результатов**

Обширные исследования показали, что результаты можно интерпретировать следующим образом:

Линия дает положительный результат, если получен минимальный рейтинг 1+

ENV1 = линия оболочечных антигенов к ВИЧ-1: sgp120 и gp41

ENV2 = линия оболочечных антигенов к ВИЧ-2: sgp105 и gp36

NEG = ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ анализ на антитела к ВИЧ



IND = НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ анализ на антитела к ВИЧ

POS = ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ анализ на антитела к ВИЧ

|                                       |                                                                                                                                                                                  |                                                                                      |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Ни одной положительной линии          | Ни одной линии ±<br>1 линия ±<br>2 или больше линий ±                                                                                                                            | NEG<br>NEG<br>IND                                                                    |
| 1 линия положительная (≥1+)           |                                                                                                                                                                                  | IND                                                                                  |
| 2 линии положительные (≥1+)           | Ни один ENV не положительный<br>1 ENV1 и p24<br>2 ENV1<br>1 ENV2 и p24<br>2 ENV2<br>Другие комбинации                                                                            | IND<br>ВИЧ-1(*)<br>ВИЧ-1(****)<br>ВИЧ-2(**)<br>ВИЧ-2<br>IND                          |
| 3 или более линий положительные (≥1+) | Ни один ENV не положительный<br>1 ENV1 и 1 ENV2<br>1 или 2 ENV1<br>1 ENV1<br>2 ENV1<br>1 или 2 ENV2<br>1 ENV2<br>2 ENV2<br>2 ENV1 и 1 ENV2<br>1 ENV1 и 2 ENV2<br>2 ENV1 и 2 ENV2 | IND<br>ВИЧ<br>ВИЧ-1(*)<br>ВИЧ-1<br>ВИЧ-2(**)<br>ВИЧ-2<br>ВИЧ-1<br>ВИЧ-2<br>ВИЧ (***) |

(\*) Если рейтинг ± получен на обеих линиях антигенов ENV2, образец ВИЧ-положителен, но не поддается типированию.

(\*\*) Если рейтинг ± получен на обеих линиях антигенов ENV1, образец ВИЧ-положителен, но не поддается типированию.

(\*\*\*) Для подтверждения ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2 инфекции будет необходимо провести анализ следующего образца альтернативными методами (напр. ПЦР).

(\*\*\*\*) См. «Ограничения процедуры».

#### ***Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных заболеваний***

Программное обеспечение LiRAS для инфекционных заболеваний помогает интерпретировать результаты LIA анализа. Чтобы получить последнюю версию ПО, обратитесь к местному дистрибьютору.

Внимание: при автоматизированной интерпретации результатов обязательно учитывайте ограничения процедуры, указанных ниже.

#### **Ограничения процедуры**

- Для оптимальной эффективности анализа необходимо строго следовать протоколу.
- Образец, дающий положительную реакцию на линии фонового контроля, может дать перекрестные реакции с линиями других антигенов к ВИЧ. Результат анализа такого образца нельзя считать положительным на антитела к ВИЧ.
- При получении неопределенного или нетипируемого результата рекомендуем снова взять у больного образец спустя несколько недель и провести анализ ещё раз.
- Если ВИЧ-положительный результат основан на положительном рейтинге всего двух линий антигенов к ВИЧ, будет необходимо провести анализ следующего образца. Если реактивность видна на линиях sgr120 и gp41 (независимо от реактивности на линии фонового контроля),

возможно имела место неспецифическая реактивность с одним из типов антител к стрептавидину. Рекомендуется провести дополнительные анализы другими методами.

- Отрицательный результат не исключает возможности воздействия или инфицирования ВИЧ.
- Разведенные образцы могут дать ошибочные результаты.
- Образцы некоторых больных могут давать одинаковую реактивность на всех линиях антигенов (в некоторых случаях вместе с линией фонового контроля) тест-полоски (так называемые буферные линии). Если реактивность имеет одинаковую интенсивность около порогового уровня (рейтинг  $\pm$ ), результаты необходимо интерпретировать следующим образом:
  - Равная реактивность всех линий антигенов (в некоторых случаях вместе с линией фонового контроля) между пороговым уровнем (рейтинг  $\pm$ ) и рейтингом 1+ считается НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫМ результатом. В таком случае рекомендуется провести дополнительные анализы другими методами.
  - Равная реактивность всех линий антигенов ниже порогового уровня (рейтинг  $\pm$ ) считается ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ результатом при условии, что реактивность линии фонового контроля также находится ниже порогового уровня.
  - Равная реактивность всех линий антигенов выше уровня 1+ считается ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ результатом при условии, что реактивность линии фонового контроля находится ниже порогового уровня.

## Эффективность анализа

### Чувствительность

#### Сероконверсионные/ низкотитражные панели

В общей сложности 12 сероконверсионных панелей BBI (PRB 903, 904, 908, 910, 912, 916, 919, 922, 923, 924, 925, 927, включая 25 ранних сероконверсионных образцов) и 3 низкотитражных панели BBI (PRB 103 - 105, включая 17 ранних сероконверсионных образцов) прошли внутреннюю 3-часовую инкубацию с помощью «INNO-LIA HIV I/II Score» и «Auto-LIA II» и 16-часовую инкубацию вручную. Результаты сравнивали с результатами Вестерн-блоттинга (таблица 1 и таблица 2). Все сероконверсионные панели начинались с отрицательного образца крови и имели короткие интервалы между заборами крови.

Таблица 1: Обзор результатов сероконверсионных панелей BBI

| Анализ                                                 | Результаты сероконверсионных панелей по сравнению с Western Blot |       |       |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------|-------|
|                                                        | Раньше                                                           | Равно | Позже |
| INNO-LIA HIV I/II Score (3-часовой анализ с Auto-LIA)* | 2                                                                | 9     | 0     |
| INNO-LIA HIV I/II Score (16-часовой анализ вручную)*   | 2                                                                | 9     | 0     |

Примечание\*: Одна из панелей (PRB924) не дала положительного результата ни в одном анализе, поэтому она не вошла в данный обзор

Таблица 2: Обзор результатов низкотитражных панелей BBI

| Анализ                                                | Количество выявленных положительных образцов/ панель |         |         |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------|---------|
|                                                       | PHV 103                                              | PHV 204 | SFTS 94 |
| INNO-LIA HIV I/II Score (3-часовой анализ с Auto-LIA) | 13                                                   | 9       | 14      |
| INNO-LIA HIV I/II Score (16-часовой анализ вручную)   | 13                                                   | 11      | 14      |
| Вестерн-блоттинг                                      | 14                                                   | 9       | 12      |

#### ВГС-положительные образцы

В общей сложности 273 ВИЧ-1-положительных и 120 ВИЧ-2-положительных образцов, получивших положительный результат анализа с помощью «Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab» и «INNO-LIA HIV Confirmation», прошли внутреннюю 3-часовую инкубацию с помощью «Auto-LIA II». Из 273 ВИЧ-1-положительных образцов все 273 образца получили положительный результат на антитела к ВИЧ-1, следовательно чувствительность и эффективность дифференцирования составляет 100% (273/273; 95% ДИ [98,6%; 100,0%]).

Из 120 ВИЧ-2-положительных образцов 108 образцов получили правильный положительный результат анализа на антитела к ВИЧ-2, 10 образцов получили положительный результат анализа на антитела к ВИЧ без типирования, а 2 образца получили неопределенный результат. В данной выборке образцов ВИЧ-2, с учетом 2 неопределенных результатов, чувствительность составила 100% (120/120; 95% ДИ [96,9%; 100,0%]), а эффективность дифференцирования - 91,5% (108/118; 95% ДИ [85,1%; 95,3%]).

### ***Специфичность***

#### **Доноры крови**

В общей сложности образцы 300 доноров крови с отрицательным результатом анализа на антитела к ВИЧ прошли внутреннюю 16-часовую инкубацию вручную. После первоначального анализа 290 образцов получили отрицательный результат, 9 - неопределенный, а 1 - положительный на антитела к ВИЧ-2. При повторном анализе в 2 экземплярах первоначальный положительный образец получил положительный результат на антитела к ВИЧ-2 в первый раз и неопределенный результат во второй раз, а также получил положительный результат при анализе на «INNO-LIA HIV Confirmation». Тот же образец получил отрицательный результат анализа на «Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab» и на «Genelabs Diagnostics HIV Blot 2.2». Специфичность для данной выборки образцов составила 96,7% (290/300; 95% ДИ [94,0%-98,2%]).

#### **Клинические образцы**

206 клинических образцов прошли внутреннюю 16-часовую инкубацию вручную. 198 образцов получили отрицательный результат,

7 - неопределенный, а 1 - положительный. Последний получил положительный результат при повторном анализе в 2 экземплярах и при анализе на «INNO-LIA HIV Confirmation», при этом он же получил отрицательный результат на «Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab» и на «Genelabs Diagnostics HIV Blot 2.2». Для данной выборки образцов специфичность составила 96,1% (198/206; 95% ДИ [92,5%-98,0%]).

#### **Потенциально проблемные образцы**

124 потенциально проблемных образца прошли внутреннюю 16-часовую инкубацию вручную. Из них 117 получили отрицательный результат, а 7 - неопределенный. Специфичность для данной выборки образцов составила 94,4% (117/124; 95% ДИ [88,8%-97,2%]).

### ***Воспроизводимость***

4 аналитика выполнили 3-часовую инкубацию панели из 5 ВИЧ-положительных образцов, а также одного положительного и одного отрицательного контроля из 2 различных партий с помощью «Auto-LIA II». Анализ на тест-полосках из разных партий разными аналитиками дал одинаковые результаты за исключением одного образца из 5, который получил неопределенный результат вместо ВИЧ-1 положительного.

### ***Товарные знаки***

«INNO-LIA», «LiRAS», и «Auto-LIA» - товарные знаки компании «Фуджиребио Европа Н.В.», зарегистрированные в США и других странах.

# INNO-LIA Syphilis Score



## Производство:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

## Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

Fujirebio Italia S.r.l.

Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH

Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

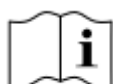
Fujirebio Iberia S.L.

Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL

Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

**Для получения информации на других языках посетите сайт:**



[www.e-labeling.eu/FRi63792](http://www.e-labeling.eu/FRi63792)

## **+800 135 79 135**

00800 161 220 577 99  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
0800 142 064 866  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5693  
0800 0100 567

## **ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## **+31 20 794 7071**

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

Необъединенная Европа

США  
Канада  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая  
Зеландия, Россия

© **Fujirebio Europe N.V.**

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                                                                     |                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                                                                          | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                                                                  | 3                                      |
| Принцип проведения теста .....                                                                                      | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                                                                      | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| <i>Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения</i> <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |                                        |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                                                           | 4                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                                                        | 5                                      |
| Образцы .....                                                                                                       | 6                                      |
| Примечания и меры предосторожности .....                                                                            | 6                                      |
| Подготовительные и ручные процедуры проведения теста .....                                                          | 6                                      |
| <i>Инструкции по промывке</i> .....                                                                                 | 8                                      |
| <i>Инструкции по инкубации</i> .....                                                                                | 8                                      |
| Автоматизированные процедуры проведения теста .....                                                                 | 8                                      |
| Результаты .....                                                                                                    | 8                                      |
| <i>Считывание</i> .....                                                                                             | 8                                      |
| <i>Валидация</i> .....                                                                                              | 9                                      |
| <i>Интерпретация результатов</i> .....                                                                              | 10                                     |
| <i>Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных болезней</i> .....                             | 10                                     |
| Ограничения процедуры .....                                                                                         | 10                                     |
| Выполнение теста .....                                                                                              | 11                                     |
| <i>Чувствительность</i> .....                                                                                       | 11                                     |
| <i>Специфичность</i> .....                                                                                          | 11                                     |
| <i>Воспроизводимость</i> .....                                                                                      | 11                                     |
| Ссылки .....                                                                                                        | 11                                     |
| Товарные знаки .....                                                                                                | 12                                     |

**Используемые символы**

Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Биологические риски



Содержит достаточное количество для тестов &lt;n&gt;



Конъюгат



Отрицательный контроль

|               |                               |
|---------------|-------------------------------|
| CONTROL +     | Положительный контроль        |
| SAMP DIL      | Разбавитель образца           |
| STOP SOLN     | Раствор для остановки реакции |
| STRIPS        | Полосы                        |
| SUBS BCIP/NBT | Субстрат BCIP/NBT             |
| WASH SOLN 5x  | Промывочный раствор 5x        |
| DANGER        | Опасность                     |
| WARNING       | Предупреждение                |
| LIA           | Линия иммуноанализа           |

### Предполагаемое использование

Оценка сифилиса INNO-LIA представляет собой линейный иммуноанализ для подтверждения наличия антитела против Бледной трепонемы в сыворотке или плазме человека. Он предназначен для использования в качестве дополнительного теста на образцы человеческой сыворотки или плазмы человека, у которых обнаружена реактивность с помощью процедуры скрининга на Бледную трепонему.

### Принцип проведения теста

Три рекомбинантных белка (TrpN47, TrpN17 и TrpN15) и один синтетический пептид (TrpA) нанесены дискретными линиями на нейлоновой полосе с пластиковой подложкой.

В дополнение к этим антигенам сифилиса на каждой полоске нанесены четыре контрольные линии: фоновая контрольная линия, 3+ положительный контроль (античеловеческий Ig), который также используется для контрольной линии добавления пробы, положительный контроль 1+ (человеческий IgG) и ± линия отсечения (человеческий IgG). Оценка сифилиса INNO-LIA основана на иммуноферментном анализе (EIA).

Тестируемый образец инкубируют в тест-лотке вместе с тест-полоской, покрытой множеством антигенов. Специфические антитела Бледной трепонемы, если они присутствуют в образце, будут связываться с отдельными линиями антигена сифилиса на полоске. После этого добавляется антитело козы к IgG человека, меченный щелочной фосфатазой, который будет связываться с любым ранее образованным комплексом сифилизантиген / антитело. Инкубация с субстратом (BCIP / NBT) дает темно-коричневый цвет пропорционально количеству специфических антител, присутствующих в образце. Развитие цвета останавливается с помощью серной кислоты. Если образец не содержит специфических для Бледной трепонемы антител, может развиваться только слабый фоновый цвет.

### Реагенты

#### **Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения**

- При условии хранения при температуре 2 -8°C в открытом или закрытом виде все реактивы для тестирования, включая тест с покрытием полоски стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке. Не замораживайте реагенты. Не используйте набор после истечения срока годности.
- Все реагенты и пластиковую пробирку с тест-полосками необходимо вынуть из коробки и довести до комнатной температуры (18–25 ° C) за 60 минут до использования. Все реагенты и тест-полоску следует вернуть в холодильник (2–8 ° C) сразу после использования.
- Изменение внешнего вида реагентов набора может указывать на нестабильность или ухудшение.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                          | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------|---------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                                   | 20            | 57332        | Содержит 20 тест-полосок, покрытых антигеном сифилиса INNO-LIAS.                                                                                                                                                                                              |
| Разбавитель образца                       | 30 мл         | 57344        | Содержит цветной (зеленый) фосфатный буфер, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы бычьего белка и 0,3% хлорацетамида (CAA) в качестве консерванта.                                                                                               |
| Готовый к употреблению конъюгат           | 45 мл         | 57301        | Содержит окрашенные (красные) козы антитела к человеческому IgG, меченные щелочной фосфатазой в Трис-буфере, содержащие стабилизаторы крупного рогатого скота, детергент и 0,01% метилизотиазолон (MIT) / <0,1% CAA в качестве консерванта.                   |
| Отрицательный контроль                    | 0,12 мл       | 57307        | Содержит базовую матрицу с 0,01% MIT / <0,1% CAA, как консервант.                                                                                                                                                                                             |
| Положительный контроль                    | 0,12 мл       | 57340        | Содержит инаktivированные человеческие сывороточные положительные антитела к Бледной трепонеме с 0,01% MIT / <0,1% CAA, как консервант.                                                                                                                       |
| Готовый к использованию субстрат BCIP/NBT | 45 мл         | 57302        | Содержащий 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат / нитросиний тетразолий в субстрате диметил формамид с 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта.                                                                                                                 |
| Стоп реагент                              | 45 мл         | 57303        | Содержит 0,1 моль/л серной кислоты                                                                                                                                                                                                                            |
| Промывочный раствор                       | 45 мл         | 57299        | Содержит цветной (синий) Трис-буфер, содержащий хлорид натрия, детергент и 0,02% бромнитродиоксан в качестве консерванта развести в 5 раз дистиллированной водой. Разбавленный промывочный раствор стабилен в течение 2 недель при температуре от 2 до 8 ° C. |
| Инкубационные лотки                       | 2             | -            | По 12 желобов в каждом                                                                                                                                                                                                                                        |
| Клей-герметик                             | 5             | -            |                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Лист отчетности                           | 1             | -            | Для хранения проявленных полос                                                                                                                                                                                                                                |
| Считывающая карта                         | 1             | -            | Для идентификации реактивных антигенных линий.                                                                                                                                                                                                                |

**Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы**

- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Орбитальный шейкер или качалка (см. Инструкции по инкубации).
- Вортексный миксер или аналог
- Градуированные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Пинцет для работы с полосой.
- Перчатки.
- Таймер (1 час, читаемость 1 минута).
- Дополнительно:  
Вакуумный аспиратор, содержащий 5% раствор гипохлорита натрия.

Повторяющаяся пипетка вместе с одноразовыми флаконами для добавления разбавителя пробы, конъюгата, субстрата, стоп-раствора и промывочного раствора.

### Правила техники безопасности и охрана окружающей среды

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



Предупреждение

**SAMP DIL**

Содержит 2-хлорацетамид  
H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P362+P364

Опасность

**SUBS BCIP/NBT 100x**

Содержит N, N-диметилформамид  
H360D  
P280 P201 P308+P313 P303+P361+P353 P305+P351+P338

#### Предупреждения об опасности

H317

Может вызвать аллергическую кожную реакцию.

H360D

Может повредить будущему ребенку.

#### Меры предосторожности

P201

Перед использованием получить специальные инструкции.

P261

Не вдыхать туман / пары / аэрозоль.

P280

Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица.

P302+P352

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды

P303+P361+P353

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или принять душ].

P305+P351+P338

ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они есть и это легко сделать. Продолжайте полоскание.

P308+P313

В случае воздействия или обеспокоенности: обратиться за медицинской консультацией / помощью.

P333+P313

При появлении раздражения кожи или сыпи: обратиться к врачу.

P362+P364

Снимите загрязненную одежду и постирайте ее перед повторным использованием.

- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- Образцы, положительный контроль и отрицательный контроль всегда должны рассматриваться как потенциально инфекционные.
- Положительный контроль и отрицательный контроль оказались отрицательными по анти-ВИЧ-1 / ВИЧ-2, анти-HCV и HBsAg. Ни один метод тестирования не может обеспечить полную гарантию того, что продукты крови не будут передавать инфекционные агенты. С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными. Таким образом, все компоненты крови и биологические материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и обращаться с ними соответствующим образом.

Все компоненты крови и биологические материалы следует утилизировать в соответствии с одной из следующих установленных процедур безопасности.

- Автоклав не менее 15 минут при 121 ° C.
- Сжигайте одноразовый материал.
- Смешайте жидкие отходы с гипохлоритом натрия так, чтобы конечная концентрация гипохлорита натрия составляла  $\pm 1\%$ . Перед утилизацией дайте постоять ночь.



Внимание: нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту, перед добавлением гипохлорита натрия.

- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

### Образцы

- Оценка сифилиса INNO-LIA может использоваться с человеческой сывороткой или плазмой.
- Многократное (более 3 раз) замораживание и размораживание образцов может давать ошибочные результаты.
- Перед хранением сыворотку или плазму следует отделить от сгустка крови или клеток крови центрифугированием.
- Храните образцы при 2-8 ° С. При хранении более одной недели замораживайте аликвоты при -20 ° С или ниже.
- Не используйте образцы, прошедшие термообработку.

### Примечания и меры предосторожности

- Не смешивайте реагенты из разных наборов, если компоненты не имеют одинаковых номеров партий.
- Замороженные реагенты, напр. хранение слишком близко к охлаждающему элементу может привести к ошибочным результатам!
- Избегайте микробного загрязнения реагентов.
- Перед использованием убедитесь, что образцы и контроли однородны.
- Не прикасайтесь к мембране полоски. Всегда манипулируйте полосками с пластиковой подложкой.
- Используйте новый наконечник пипетки для каждого образца.
- Убедитесь, что тест-полоски помещены в лотки **мембранной стороной вверх**.
- Все этапы инкубации следует выполнять с использованием шейкера или качалки (используйте качалку только для инкубации в течение ночи).
- Встряхивание растворов над полосками важно для достижения равномерного окрашивания линий и максимальной чувствительности. Во время встряхивания поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду.
- Накройте лотки клеящим средством, чтобы избежать высыхания полосок во время инкубации образцов в течение ночи.
- Неиспользованные и проявленные полоски следует хранить вдали от яркого света и тепла.
- Этот набор должен использоваться только персоналом, прошедшим подготовку в клинической лабораторной практике.
- Повторное использование полосок или желобов приведет к ошибочным результатам.
- Обрезка полос приведет к ошибочной интерпретации результатов.

### Ручная процедура проведения теста

Перед проведением теста прочтите примечания и меры предосторожности.

1. Возьмите необходимое количество тестовых желобов.
2. Для каждого теста можно использовать положительный и отрицательный контроль для целей внутреннего контроля.
3. Определите тестовые лотки как образец (и контроли) и поместите их в лоток.

4. Убедитесь, что образец пациента или контрольный образец не пролился в соседние ячейки. Во избежание перекрестного загрязнения осторожно добавляйте образец пациента или контрольный образец и реагенты в течение всей процедуры ручного анализа.

5. Добавьте по **1 мл разбавителя образца** в каждую чашу для тестирования.

6. Добавьте **10 мкл** соответствующего образца или контроля в корыто с соответствующей маркировкой.

7. Выньте необходимое количество **тест-полосок** из их контейнера и добавьте по одной полоске в каждую из тестовых лотков.

Тест-полоска помещается мембранной стороной вверх в лоток с помощью пинцета. НЕОБХОДИМО ПОЛНОСТЬЮ ПОГРУЗИТЬ ПОЛОСКУ В ЖИДКОСТЬ.

8. **Закройте** желоба специальной пленкой (см. «Примечания и меры предосторожности»). **Инкубируйте** образцы, поместив лоток на шейкер или качалку (см. «Инструкции по инкубации»), и встряхивайте НОЧЬ ( $16 \pm 2$  часа) при комнатной температуре.

(18–25 ° C).

ПРИМЕЧАНИЕ. Осторожно удалите клейкую пленку, чтобы избежать перекрестного загрязнения.

9. **Промойте** каждую тест-полоску **3 раза** (5 минут) **1 мл промывочного раствора**.

(см. «Инструкции по стирке»).

10. Добавьте по **1 мл раствора конъюгата** в каждую пробирку.

11. **Инкубируйте** с конъюгатом, поместив тестовый лоток на шейкер или качалку, и перемешивайте в течение 30 минут при комнатной температуре (18–25 ° C).

12. **Промойте** каждую тест-полоску 3 раза (5 минут) **1 мл промывочного раствора**.

(См. «Инструкции по стирке»)

13. Добавьте по **1 мл раствора субстрата** в каждую тестовую ванну.

14. **Инкубируйте** с субстратом, поместив тестовый лоток на шейкер или качалку, и перемешивайте в течение 30 минут при комнатной температуре (18–25 ° C).

15. Аспирируйте жидкость. Добавьте по **1 мл стоп-раствора** в каждый желоб.

16. **Инкубируйте** со стоп-раствором, поместив чашу для тестирования на шейкер или качалку, и перемешивайте в течение 10–30 минут при комнатной температуре (18–25 ° C).

17. Аспирируйте стоп-раствор.

18. **Извлеките** полоски из тестовых лотков и поместите их мембраной вверх на впитывающую бумагу с помощью пинцета. Как только полоски полностью высохнут, результаты можно будет интерпретировать. Чтобы ускорить процесс сушки, поместите полоски в сухой инкубатор при 37 ° C на 30 минут или используйте вентилятор горячего воздуха на 1 минуту. Проявленные полоски сохранят свой цвет при хранении в темноте.

Краткое описание процедуры испытания приведено в следующей таблице:

| <b>16-часовая процедура инкубации образцов</b> |                       |
|------------------------------------------------|-----------------------|
| Разбавитель образца                            | 1 мл                  |
| Образцы                                        | 10 мкл                |
| Контроли                                       | 10 мкл                |
| Тестовые полоски LIA                           | 16 часов $\pm$ 2 часа |
| Промывка                                       | 1 мл / 3 x 5 мин      |
| RTU * конъюгат                                 | 1 мл / 30 мин         |
| Промывка                                       | 1 мл / 3x 5 мин       |
| RTU * субстрат                                 | 1 мл/30 мин           |
| Раствор для остановки реакции                  | 1 мл/10-30 мин        |

(\*) RTU = Готовый к использованию

**Инструкции по промывке**

- Держите лоток под углом, чтобы вся жидкость стекала к одной стороне лотка (стороне непокрытой пластиковой основы полосок).
- Аспирируйте жидкость пипеткой, желательна прикрепленная к вакуумному аспиратору.
- Добавьте по 1 мл промывочного раствора (см. «Реагенты») в каждую ванну и перемешивайте в течение 5 минут на шейкере или качалке.
- Аспирируйте жидкость пипеткой, удерживая лоток под углом, как описано выше.
- Повторите эти шаги столько раз, сколько указано в процедуре проверки.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Не позволяйте полоскам высыхать между этапами промывки.

- Следите за тем, чтобы не повредить поверхность тест-полосок во время аспирации.
- Всегда используйте чистое аспирационное устройство с ловушкой для дезинфицирующего средства, чтобы избежать перекрестного заражения.
- Убедитесь, что полоска полностью погружена в промывочный раствор, чтобы обеспечить тщательную промывку.
- При необходимости отрегулируйте скорость шейкера или качалки (см. «Указания по инкубации»).
- Избегайте попадания промывочного раствора на края желобов.

**Инструкции по инкубации**

- Все этапы инкубации (образец, конъюгат, субстрат и стоп-раствор), а также этапы промывки должны выполняться на шейкере или качалке.
- На этапах инкубации и промывки полоска должна быть полностью погружена мембраной вверх.
- Шейкер или качалка должны обеспечивать возвратно-поступательное движение полосок в желобе (важно встряхивание жидкости по полосе) без проливания жидкости через края желоба.
- Скорость, создаваемая орбитальным встряхивателем или качалкой, имеет решающее значение для достижения равномерного окрашивания лески и оптимальной производительности.

**Рекомендации**

Для орбитального шейкера:

- Диаметр кругового движения должен быть не менее 13 мм.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 13 мм - 160 об / мин.
- Рекомендуемая скорость для кругового движения 24 мм - 90 об / мин.

Для рокера:

- Рекомендуемая скорость 34 об / мин при угле качания около 9 °.

**Автоматизированные процедуры тестирования**

Инструменты и соответствующие протоколы доступны в Fujirebio Europe N.V. (см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

**Полученные результаты****Чтение**

Расположение и идентификация антигенов и контролей, нанесенных на полоску, показаны на рисунке 1.

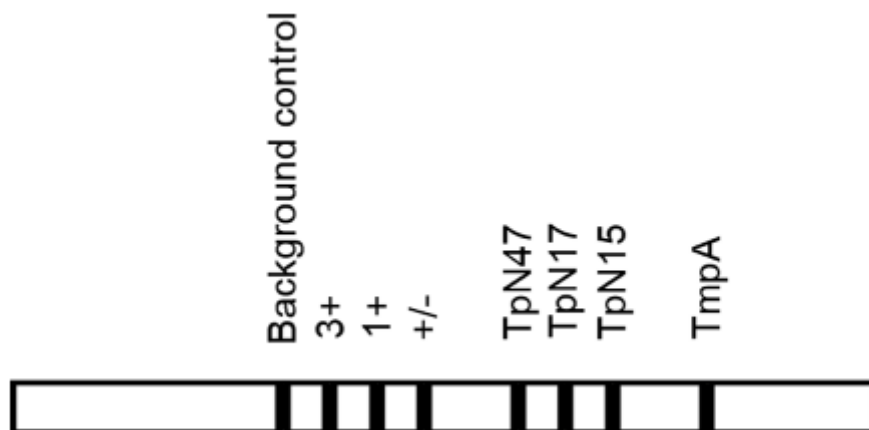


Рисунок 1: Тест-полоска INNO-LIA Syphilis Score

Результаты можно интерпретировать только после полного высыхания полосок. Для правильной интерпретации используйте карту для чтения. Идентификация линий достигается совмещением контрольной линии 3+ на проявленной полосе с соответствующей контрольной линией 3+ на карте считывания.

Оценка от «-» до «4+» дается антигенным линиям на проявленных полосках путем сравнения их интенсивности с интенсивностью контрольных линий.

*Интенсивность антигенных линий (R) по сравнению с контрольными линиями*      *Рейтинг*

|                                    |                |       |
|------------------------------------|----------------|-------|
| Ниже чем $\pm$                     | $R < \pm$      | -     |
| Равно $\pm$                        | $R = \pm$      | $\pm$ |
| Больше $\pm$ и меньше или равно 1+ | $\pm < R < 1+$ | 1+    |
| Выше 1+, но ниже 3+                | $1+ < R < 3+$  | 2+    |
| Равно 3+                           | $R = 3+$       | 3+    |
| Выше чем 3+                        | $R > 3+$       | 4+    |

### Валидация

Перед чтением результатов теста необходимо проверить достоверность контрольных уровней на каждой полоске, которые должны соответствовать следующим критериям.

#### Проверка одной полосы:

1. Должны быть видны контрольные уровни 1+ и  $\pm$ , а также сильный положительный контрольный уровень 3+.
2. Интенсивность контрольного уровня 3+ должна быть больше, чем интенсивность уровня 1+, а интенсивность уровня 1+ должна быть больше, чем интенсивность уровня  $\pm$ .
3. Линия фонового контроля должна иметь отрицательную оценку.

В случае анализа положительного и отрицательного контроля, достоверность полосок положительного и отрицательного контроля должна быть проверена до считывания результатов теста и должна соответствовать следующим критериям.

1. Полоска положительного контроля должна показывать реакцию не менее 1+ на всех линиях антигена сифилиса.
2. Полоска отрицательного контроля должна показывать отрицательную реакцию (ниже  $\pm$  граничный уровень) на всех линиях антигена сифилиса.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Слабые контрольные полосы могут наблюдаться для образцов, содержащих высокие уровни IgG (выше нормального диапазона IgG).
- Полоска должна быть полностью высушена, чтобы избежать неверной интерпретации из-за появления слабо видимых полос после добавления стоп-разбавителя.
- Не кладите бумагу на полосы, пока они влажные.
- В случае неожиданных результатов или при подозрении на ошибку процедуры тестирования, тест следует повторить, а положительный и отрицательный контроль следует включить в новый прогон теста.

**Интерпретация результатов**

Обширные оценки показали, что результаты можно интерпретировать следующим образом: Образец считается **ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ** на антитела к Бледной Трепонеме:

- если все линии антигенов сифилиса имеют отрицательный рейтинг реактивности
- если одна линия антигена сифилиса имеет баллы  $\pm$

Образец считается **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ** на антитела *Treponema pallidum*:

- если две или более полосы сифилиса показывают реактивность  $\pm$  или выше

Образец считается **НЕОПРЕДЕЛЕННЫМ** на антитела к *Treponema pallidum*:

- если одна полоса сифилиса показывает реактивность 1+ или выше

**Показания по интенсивности**

|                     |                      |                         |
|---------------------|----------------------|-------------------------|
| Нет полосы          | Изолированная полоса | Две и более полос       |
| Одна полоса = $\pm$ | Интенсивность > - 1+ | Интенсивность > - $\pm$ |
| Отрицательный       | Неопределенный       | Положительный           |

**Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для инфекционных болезней**

Программное обеспечение LiRAS для инфекционных заболеваний предназначено для помощи в интерпретации результатов LIA.

Пожалуйста, свяжитесь с вашим местным дистрибьютором, чтобы получить последнюю обновленную версию.

**Ограничения процедуры**

- Для получения оптимальных результатов анализа необходимо строго соблюдать предоставленный протокол.
- Если получен неопределенный результат, рекомендуется провести повторный анализ того же пациента через несколько недель.
- Отрицательный результат не исключает возможности контакта с Бледной Трепонемой.
- В случае, если наблюдается реактивность на линии TrpA (независимо от реактивности на фоновой контрольной линии), возможно, что имела специфическая реактивность с каким-либо типом антистрептавидиновых антител. Следовательно, полоска не может быть определена как положительная на антитела Бледной Трепонемы. Рекомендуется дополнительное тестирование с другими методами тестирования.
- Использование разбавленных образцов может дать ошибочные результаты.
- Некоторые образцы пациентов могут давать одинаковую реактивность на всех линиях антигена (в некоторых случаях в сочетании с контрольной линией фона) на полосе (так называемые буферные линии). Когда эти реактивности имеют одинаковую интенсивность около порогового значения ( $\pm$  рейтинг), результаты следует интерпретировать, как указано ниже:

- Равная реактивность на всех линиях антигенов (в некоторых случаях в сочетании с фоновой контрольной линией) между пороговым значением (+/- рейтинг) и рейтингом 1+ считается НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫМ, и рекомендуется дополнительное тестирование с другими методами тестирования.
- Равная реактивность на всех линиях антигенов ниже порогового уровня (+/- рейтинг) считается ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ при условии, что реактивность фоновой контрольной линии также ниже порогового уровня.
- Равная реактивность на всех линиях антигенов выше уровня 1+ рассматривается как ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ при условии, что реактивность фоновой контрольной линии ниже порогового уровня.

## **Выполнение теста**

### **Чувствительность**

В общей сложности 201 образец с положительным результатом на сифилис был протестирован внутри страны с использованием шкалы оценки сифилиса INNO-LIA с использованием ручной процедуры. Все образцы дали положительный результат анализа, что привело к 100% чувствительности (201/201).

### **Специфичность**

#### Доноры крови

В общей сложности 300 доноров крови прошли внутреннее тестирование по шкале сифилиса INNO-LIA с использованием ручной процедуры. После первоначального тестирования 290 образцов были признаны отрицательными, а 10 образцов - неопределенными, в результате чего исходная специфичность составила 96,7% (290/300).

#### Клинические и потенциально мешающие образцы

В общей сложности 167 клинических и потенциально мешающих образцов были протестированы внутри компании. Все образцы, кроме одного, реагируют отрицательно. Этот образец был повторно протестирован в двух экземплярах и дважды был признан отрицательным. В этом наборе образцов была получена исходная специфичность 99,4% (166/167), а после повторного тестирования специфичность составила 100%.

### **Воспроизводимость**

Прецизионное тестирование проводилось путем тестирования четырех положительных на сифилис образцов, а также отрицательного и положительного контроля.

2 оператора в 2 запусках в трех экземплярах. Все образцы дали одинаковые конечные результаты.

Изменчивость между партиями оценивалась путем тестирования 9 образцов, положительных на сифилис, из 3 партий набора, один раз с использованием ручной процедуры и один раз с использованием Auto-LIA. Каждый из 9 образцов дал одинаковые конечные результаты для разных партий.

### **Ссылки**

Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, Sablon E, Samson I, De Bosschere K, Hulstaert F, Zrein M. Проверка сифилиса INNO-LIA в качестве подтверждающего теста на антитела Бледной Трепонеми. Дж. Клин Микробиол 2000; 38: 215-219.

Hagedorn J, Vanneste L, De Bosschere K, Pottel H, Hulstaert F, Van de Voorde A, Zrein M. Проверка алгоритма интерпретации сифилиса INNO-LIA с использованием хорошо охарактеризованных сывороток. Fujirebio Europe N.V, Гент, Бельгия, код отчета об исследовании DR-SYP-009,1999: 1-11.

### **Товарные знаки**

INNO-LIA, LiRAS и Auto-LIA являются товарными знаками Fujirebio Europe N.V., зарегистрированными в США и других странах.

## INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио Европа Н.В.)

Технолоджипарк, 6

9052 ГЕНТ

Бельгия

Тел.: +32 9 329 13 29

БТВ Бельгия 0427.550.660

РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио Европа Н.В.)

Тел. +32 9 329 13 29

Факс +32 9 329 19 11

Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио Германия ГмбХ)

Тел. +49 511 857 39 31

факс +49 511 857 39 21

germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио Франция САРЛ)

Тел. +33 1 69 07 48 34

факс +33 1 69 07 45 00

france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия С.р.л.)

Тел. +39 06 965 28 700

Факс +32 06 965 28 765

Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия С.Л.)

Тел. +34 93 270 53 00

Факс +34 93 270 53 17

spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

**Европа +800 135 79 135**

ГР 00800 161 220 577 99

ИС 800 8996

ЛТ 880 030 728

РУ 0800 895 084

СК 0800 606 287

ТР 0800 142 064 866

ЛИ +31 20 796 5692

МТ +31 20 796 5693

ИИ 0800 0100567

**Не-Европа +31 20 794 7071**

США +1 855 236 0910

КА +1 855 805 8539

АР, БР, КО, УР, +800 135 79 135

АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |



## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                            |   |
|----------------------------------------------------------------------------|---|
| Используемые символы.....                                                  | 2 |
| Предполагаемое использование .....                                         | 2 |
| Принцип проведения теста.....                                              | 2 |
| Реагенты .....                                                             | 3 |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения..... | 3 |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы.....                   | 3 |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды.....                | 4 |
| Сбор, подготовка и хранение образцов .....                                 | 4 |
| Выделение ДНК.....                                                         | 4 |
| Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР).....                | 4 |
| Цикличность ПЦР.....                                                       | 4 |
| Примечания и меры предосторожности .....                                   | 4 |
| Процедура проведения теста.....                                            | 5 |
| Результаты.....                                                            | 6 |
| Визуализация .....                                                         | 6 |
| Проверка достоверности.....                                                | 6 |
| Ограничения процедуры.....                                                 | 7 |
| Выполнение теста.....                                                      | 7 |
| Выполнение теста с использованием раствора праймера HLA-B Multiplex .....  | 7 |
| Выполнение теста с использованием раствора праймера HLA-Bw4 .....          | 8 |
| Товарные знаки.....                                                        | 8 |

## Используемые символы



Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



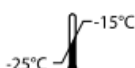
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Буферный раствор для амплификации



Раствор праймера



LiPA Taq

## Предполагаемое использование

Набор «INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus», для использования в лабораторных условиях, предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты со второго по четвёртый экзон лейкоцитарного антигена человека (HLA) locus B, используя праймеры HLA-B multiplex, и второго экзона аллелей лейкоцитарного антигена человека (HLA) Bw4, используя праймеры HLA-Bw4. Реакция осуществляется посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## Принцип проведения теста

Набор «INNO-LiPA HLA-B Multiplex», используемый в сочетании с индикаторными полосами INNO-LiPA HLA-B Update, предназначен для типирования аллелей HLA-B на уровне группы аллелей. Однако сохраняются некоторые неоднозначности. Для разрешения наиболее частых случаев неоднозначности, т.е. неоднозначностей, связанных с аллелями Bw4/Bw6, была добавлена амплификация HLA-Bw-4.

Образец ДНК, который должен быть амплифицирован посредством ПЦР, вводится в смесь реагентов, состоящую из избытка дезоксинуклеозид 5'-трифосфатов (dNTPs), биотинилированных праймеров и термостабильной ДНК-полимеразы. Праймеры HLA-B Multiplex будут амплифицировать со второго по четвёртый экзон HLA - locus B, специфические праймеры HLA-Bw4 будут амплифицировать второй экзон всех аллелей Bw4 и в дополнение к этому аллели B\*4411, B\*4703 и B\*5708.

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, что подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры являются комплементарными для участков, фланкирующих целевую последовательность. Таким образом, после охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг). При другой температуре, а также используя dNTPs, термостабильная ДНК-полимераза будет достраивать отождённые праймеры вдоль целевой матрицы (достройка).

Таким образом, две точные биотинилированные копии матричной последовательности воспроизводятся после одного цикла денатурации, отжига и достройки. После многочисленных циклов образуется огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить отдельно от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных ДНК-продуктов.
- При поддержании температуры в диапазоне от -15 до -25°C, во вскрытом или невскрытом состоянии, и хранении в оригинальных флаконах, реагенты обладают стабильностью до даты истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить аликвотами реагенты (за исключением LiPA-Taq) после первого применения и затем хранить их при температуре от -15 до -25°C. - Не используйте реагенты после истечения срока годности набора.
- Изменения внешнего вида реагентов, входящих в набор, может указывать на нестабильность или ухудшение их свойств.

Поставляемые реагенты:

| <u>Компонент</u>                  | <u>Количество</u> | <u>Ссылочный номер</u> | <u>Описание</u>                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл        | 56722                  | Содержит все дезоксинуклеозид 5'-трифосфаты (dNTPs) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания перед использованием и доведите до 20 - 25°C.                                                                        |
| Раствор праймера HLA-B Multiplex  | 1 x 0,3 мл        | 56725                  | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> , Трис и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания для того, чтобы полностью растворить MgCl <sub>2</sub> до использования и доведите до температуры 20-25°C. |
| Раствор праймера HLA-Bw4          | 1 x 0,07 мл       | 57937                  | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания для того, чтобы полностью растворить MgCl <sub>2</sub> до использования, и доведите до температуры 20 - 25°C.     |
| LiPA-Taq                          | 1 x 0,035 мл      | 700093                 | Содержит ДНК-полимеразу горячего старта Taq (2 ед./мкл) в качестве консерванта. Храните при температуре от -15 до -25°C непосредственно перед использованием.                                                                                          |

### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники дозатора (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Стойки для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер ДНК и оборудование.

- Дозаторы, регулируемые для подачи 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Автоклавированная дистиллированная вода.

#### **Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www. fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).
- Буферный раствор для амплификации, раствор праймера HLA-Bw4, раствор праймера HLA-B и LiPA Taq содержат азид натрия в качестве консерванта. Чтобы предотвратить образование высокотоксичного газа, избегайте контакта азид натрия с кислотами. Чтобы предотвратить образование взрывоопасного азид свинца или меди в водопроводной и канализационной сети, тщательно смойте остатки водой после удаления растворов, содержащих азид натрия.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциальными возбудителями инфекции.
- Необходимо использование средств индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки при обращении с опасными или инфекционными агентами.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов.
- Также следует соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

#### **Сбор, подготовка и хранение образцов**

##### **Выделение ДНК**

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), или с помощью этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Хранить образцы ДНК при температуре от -15 до -25°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию от 0,02 мкг/мкл до 1,5 мкг/мкл.**

**Степень чистоты ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1,5$ . В случае получения ДНК высокой степени чистоты, используйте концентрацию ДНК, близкую к нижнему пределу в смеси ПЦР.**

##### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Реагенты не поставляются.

##### **Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)**

Каждый компонент должен добавляться и подаваться в надлежащем количестве. Слишком большой или слишком маленький объем образца или реагентов может привести к неспецифической амплификации или даже к полному отсутствию амплификации.

##### **Цикличность ПЦР**

Следует выбирать правильный температурный профиль для «INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus».

#### **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты следует изолировать от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных ДНК-продуктов. Кроме того, следует избегать микробного загрязнения реагентов.
- Избегать любого возвращения из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.

- Все наконечники дозатора и пробирки, используемые для процесса амплификации, должны быть простерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозатора с ватными пробками. Используйте новый стерильный наконечник дозатора для каждого поделённого на аликвоты образца.
- Обращаться с реагентами, используемыми для процессов амплификации, следует в помещении, не содержащем амплифицированную ДНК. Следует использовать стерилизованные в автоклаве пробирки и наконечники дозатора (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- После оттаивания, перемешать на вортексе Буферный раствор для амплификации и Растворы праймера и осадить путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA Taq.

### Процедура проведения теста

- Данный протокол по амплификации экзона 2, экзона 3 и экзона 4 аллелей HLA-B и экзона 2 аллелей HLA-Bw4 был разработан с целью выполнения оптимальной амплификации, используя пробирки для ПЦР MicroAmp® (объёмом 0,2 мл) и термоциклеры ПЦР-системы 9700 GeneAmp®, а также LiPA-Taq.  
Настоящий протокол можно использовать для большинства термоциклеров промышленного типа, но он может потребовать некоторых изменений, указанных изготовителем термоциклера.
  - Перед использованием определить, согласуется ли протокол с термоциклером, используемым в Вашей лаборатории. Следите за тем, чтобы термоциклер был откалиброван перед использованием.
  - Примите необходимые меры предосторожности для того, чтобы избежать неспецифической амплификации и образования праймер-димеров, что может ухудшить результаты:
    - Выполнить успешно и без задержек этапы по отмериванию дозатором.
    - Предварительно нагреть (до 96°C) нагревательный блок термоциклера перед тем, как вставить образцы, и сразу после этого приступить к процессу выполнения цикла.
  - Амплификацию INNO-LiPA HLA-Bw4 следует применять, только если образец состоит, по меньшей мере, из одного аллеля Bw4; слабая неспецифическая амплификация может иметь место в том случае, если в образце присутствуют только аллели, не относящиеся к Bw4.
1. Разбавить каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 1,5 мкг/мкл в буферном растворе трис-EDTA. Определить количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:  
 $N = \text{количество образцов ДНК} + 1$  (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1.  
Используя наконечники дозаторов, закрытые ватной пробкой, подготовить исходную смесь (мастер-микс) в стерилизованной в автоклаве пробирке объёмом 1,5 мл:

#### Для амплификации HLA-B Multiplex:

(N x 23,75 мкл) автоклавированной дистиллированной воды  
+ (N x 10 мкл) буферного раствора для амплификации (с жёлтой крышкой)  
+ (N x 10 мкл) раствора праймера HLA-B Multiplex (с зелёной крышкой)  
+ (N x 1,25 мкл) LiPA-Taq (N x 2,5 ед.) (с сиреневой крышкой)

#### Для амплификации HLA-Bw4:

(N x 24,375 мкл) автоклавированной дистиллированной воды  
+ (N x 10 мкл) буферного раствора для амплификации (с жёлтой крышкой)  
+ (N x 10 мкл) раствора праймера HLA-Bw4 (с красной крышкой)  
+ (N x 0,625 мкл) LiPA-Taq (N x 1,25 ед.) (с сиреневой крышкой)

Общий объём этой смеси для амплификации теперь будет составлять (N x 45 мкл).

Быстро перемешать на вортексе и распределить аликвотами 45 мкл этой исходной смеси в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

2. Отмерить дозатором 5 мкл (0,1 - 7,5 мкг) препарата геномной ДНК.  
Добавить 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.  
ПРИМЕЧАНИЕ:
  - Не перемешивать на вортексе и не смешивать.
  - Убедитесь, что смесь для амплификации находится в нижней части пробирки.
3. Поместить образцы в предварительно нагретый и откалиброванный термоблок (см. инструкции, предписанные изготовителем термоблока). Запустить программу амплификации, предназначенную для амплификации HLA-B Multiplex или HLA-Bw4.
4. Профиль амплификации HLA-B Multiplex Plus:

| Этап |                     | Температура<br>± 0,75°C | Время   |                                            |
|------|---------------------|-------------------------|---------|--------------------------------------------|
| 1    | активация           | 95°C                    | 10 мин. |                                            |
| 2    | денатурация         | 96°C                    | 5 мин.  |                                            |
| 3    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла<br>3-5,<br>5 раз     |
| 4    | отжиг праймеров     | 64°C                    | 50 сек. |                                            |
| 5    | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                            |
| 6    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла<br>6-8,<br>5 раз     |
| 7    | отжиг праймеров     | 62°C                    | 50 сек. |                                            |
| 8    | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                            |
| 9    | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла<br>9-11,<br>10 раз   |
| 10   | отжиг праймеров     | 60°C                    | 50 сек. |                                            |
| 11   | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                            |
| 12   | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | Повторить этапы цикла 12-<br>14,<br>15 раз |
| 13   | отжиг праймеров     | 55°C                    | 50 сек. |                                            |
| 14   | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                            |
| 15   | Удлинение           | 72°C                    | 10 мин. |                                            |
| 16   | Удержание           | 4°C                     |         |                                            |

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса I INNO-LiPA HLA и для INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus.

5. По завершении амплификации с помощью праймеров INNO-LiPA HLA-B Multiplex, сразу использовать образцы с индикаторными полосами 1 и 2 набора «INNO-LiPA HLA-B Update Plus», или хранить при температуре от -15 до -25°C.

По завершении амплификации с помощью праймеров INNO-LiPA HLA-Bw4, сразу использовать образцы с индикаторной полосой 1 набора «INNO-LiPA HLA-B Update Plus», или хранить при температуре от -15 до -25°C.

## ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не хранить амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты****Визуализация**

- Присутствие ампликонов можно проверить на 2% агарозном геле.
- Наполнить каждое гнездо по 10 мкл амплифицированного продукта. Амплификация HLA-B Multiplex производит три отчетливых ампликона размером 555 пар оснований (экзон 2), 436 пар оснований (экзон 3) и 323 пар оснований (экзон 4).  
Амплификация HLA-Bw4 производит один ампликон размером 354 пар оснований (экзон 2).
- Внутренние наблюдения показывают, что если видны полосы после проверки 10 мкл амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат можно получить с помощью анализа LiPA.

**Проверка достоверности**

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении реакции амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует изучить возможность включения дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

**Ограничения процедуры**

- Использование этого изделия должно ограничиваться персоналом, хорошо обученным в области методов амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может стать причиной полностью неудавшегося анализа.
- Порошок из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторное замораживание/оттаивание образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке связывания с праймером считается очень низким, поскольку никогда не наблюдался неудовлетворительный результат праймера, и было протестировано значительное количество аллелей по всем группам. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведённых процедур обеспечивают специфическую амплификацию.

**Выполнение теста****Выполнение теста по Раствору праймера HLA-B Multiplex**

Результативность набора «INNO-LiPA HLA-A Multiplex» оценивалась в 4 европейских лабораториях по типированию тканей на стандартных серийных пробах. Всего было проанализировано 347 образцов. ДНК была выделена из свежей или замороженной крови, антикоагулированной EDTA или цитратом. Методы выделения ДНК включили в себя: высаливание, наборы для выделения ДНК из крови QIAamp 96 (Qiagen), набор для очистки геномной ДНК (Promega) и Puregene (Системы Gentra). Свежая или замороженная ДНК была амплифицирована, используя термоциклер Системы для ПЦР GeneAmp® PE-9600 или PE-9700. Ампликоны хранились при температуре 2-8°C или в диапазоне от -15 до -25 °C, перед тем как они были нанесены на индикаторные полосы.

**Область применения**

По результатам, полученным в ходе проведения внутренней оценки серии разведения 3 образцов ДНК, варьируясь в пределах от 0,01 мкг/мкл до 2 мкг/мкл, рекомендовано использовать ДНК с минимальной концентрацией 0,1 мкг/мкл. Внешняя оценка качества работы включала в себя 347 образцов ДНК с концентрацией от 20 мкг/мкл до 1500 мкг/мкл и с чистотой ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ )  $\geq 1,5$ . ДНК была разведена до концентрации от 20 мкг/мкл до 250 мкг/мкл перед амплификацией. Неудовлетворительных результатов амплификации не обнаружено, хотя повторное проведение теста потребовалось для 2 образцов из одного центра.

### *Точность*

#### Внутренние данные:

Два образца были амплифицированы в четырёх одинаковых экземплярах, в двух разных сериях опытов, двумя разными лицами.

Все образцы были видны на агарозном геле. Реактивность зондов была сопоставимой во всех комбинациях.

Интерпретация результатов была идентичной во всех случаях.

#### **Выполнение теста по Раствору праймера HLA-Bw4**

Результативность Раствора праймера HLA-Bw4 из набора «INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus» оценивалась внутри компании и в двух бельгийских лабораториях по типированию тканей на стандартных серийных пробах. Всего было проанализировано 82 анонимных образца (50 образцов извне; 32 - внутри компании). ДНК была предварительно выделена из свежей (антикоагулированной EDTA в 30 образцах; неизвестно в 4 образцах) или замороженной цельной крови (антикоагулированной раствором, включающим кислоту, цитрат и декстрозу (ACD) в 20 образцах; EDTA в 25 образцах; неизвестно с одним образце). Для двух образцов не были известны ни антикоагулянт, ни температура хранения.

Использовались следующие методы выделения ДНК: набор для выделения ДНК из крови Puregene (Системы Gentra), мининабор для выделения ДНК из крови QIAamp (Qiagen) или внутренний метод высаливания. ДНК хранилась при температур  $e-20^{\circ}\text{C}$ .

Чистота ДНК ( $A_{260}/A_{280}$ ) колебалась в пределах от 1 до 2,9 (76 образцов). Степень чистоты была неизвестна для шести образцов; они были приняты для анализа, так как другие образцы, выделенные с использованием того же самого метода, были хорошего качества. Концентрация после выделения варьировалась от 0,014 до 1,037 мкг/мкл.

ДНК в количестве 25 образцов была разведена до концентрации 0,05 мкг/мкл перед амплификацией. По 57 образцам ДНК не разводилась перед амплификацией (интервал концентрации 0,014-1,037 мкг/мкл). Для проведения данной оценки использовались Система для ПЦР GeneAmp® PE-9600 или PE-9700.

Амплификация 78 образцов была успешной с первой попытки. По четырём образцам, протестированным в одном центре, потребовался один повторный тест из-за отрицательного (три образца) или размытого (один образец) результата на геле. Три образца продемонстрировали успешный результат со второй попытки, но остался один неудовлетворительный результат выполнения амплификации. Внутрифирменное повторное проведение теста на этом образце в трёх экземплярах оказалось успешным с первой попытки.

#### *Область применения*

Внутренняя и внешняя оценка продемонстрировали успешную амплификацию, используя 5 мкл выделенной ДНК с интервалом концентрации 0,014-1,037 мкг/мкл для 81 образца из 82.

### *Точность*

Воспроизводимость результатов (в рамках одного анализа), а также вариативность в рамках проведения нескольких анализов и разными людьми оценивались собственными силами. Один образец был амплифицирован в двух экземплярах, используя три различных термоциклера и обрабатывая по две серии опытов на термоциклере. Данный протокол выполнялся в двух параллельных опытах двумя разными лицами. Значимых изменений не наблюдалось.

Изменение внутри партии оценивалось собственными силами посредством амплификации одного образца в трёх экземплярах, используя три разные партии праймеров. Все продукты ПЦР продемонстрировали сопоставимую интенсивность на 2% агарозном геле.

#### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является общемировым торговым знаком™, как и в США.

- LiPA является зарегистрированным торговым знаком® в странах Бенилюкс и торговым знаком™ в остальных странах (включая США).

- GeneAmp® и MicroAmp® является зарегистрированным торговым знаком компании «Applied Biosystems, LLC».

## INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus



### Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

### Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн | Вт | Ср | Чт | Пт | Сб | Вс |
|----|----|----|----|----|----|----|
| ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☐  | ☐  |



**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                             |   |
|-----------------------------------------------------------------------------|---|
| Используемые символы .....                                                  | 2 |
| Предполагаемое использование .....                                          | 2 |
| Принцип проведения теста .....                                              | 2 |
| Реагенты .....                                                              | 3 |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 3 |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                   | 3 |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды.....                 | 4 |
| Сбор, подготовка и хранение образцов .....                                  | 4 |
| Выделение ДНК.....                                                          | 4 |
| Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) .....                | 4 |
| Цикличность ПЦР .....                                                       | 4 |
| Примечания и меры предосторожности .....                                    | 5 |
| Процедура проведения теста .....                                            | 5 |
| Результаты .....                                                            | 6 |
| Визуализация .....                                                          | 6 |
| Проверка достоверности .....                                                | 7 |
| Ограничения процедуры .....                                                 | 7 |
| Эффективность анализа .....                                                 | 8 |
| Диапазон применения.....                                                    | 8 |
| Погрешность измерений .....                                                 | 8 |
| Товарные знаки .....                                                        | 8 |

**Используемые символы**

Производитель

Медицинский прибор для диагностики *в лабораторных условиях*

Код партии



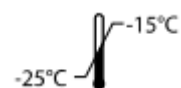
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



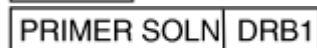
Набор для амплификации



Буферный раствор для амплификации



LiPA Taq



Раствор праймера DRB1

**Предполагаемое использование**

Набор «INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus» для использования *в лабораторных условиях* предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты второго экзона локуса DRB1 лейкоцитарного антигена человека (HLA).

Реакция происходит посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

**Принцип проведения теста**

«INNO-LiPA DRB1 Amplification» при использовании в сочетании с полосой INNO-LiPA HLA-DRB1 предназначен для типирования аллелей HLA-DRB1 на уровне группы аллелей. Тем не менее, могут оставаться неоднозначные результаты.

Для уточнения наиболее частых неоднозначных результатов, например, с участием аллелей DRB1\*03,11,13 и/или 14 была добавлена амплификация HLA-DRB1\*03,11,13,14.

Образец ДНК, предназначенный для амплификации с помощью ПЦР, помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTP), биотинилированные праймеры, а также термостабильную ДНК-полимеразу. Праймеры HLA-DRB1 будут амплифицировать экзон 2 локуса DRB1. HLA-DRB1 которые не совпадают в сайте связывания праймера и не амплифицированы с помощью праймера HLA-DRB1, перечислены в руководстве по использованию набора INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus.

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, что подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры комплементарны участкам, фланкирующим целевую последовательность. Таким образом, после охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг). При другой температуре и с использованием dNTP термостабильная ДНК-полимераза будет достраивать отождествленные праймеры вдоль целевой матрицы (достройка). Таким образом, после одного цикла денатурации, отжига и расширения будут получены две точные биотинилированные копии матричной последовательности. После нескольких циклов будет получено огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить вдали от источников загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.
- При условии хранения при температуре от -15 до -25°C в открытом или закрытом виде, в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить реагенты аликвотами (кроме LiPA-Taq) после первого использования и затем хранить при температуре от -15 до -25°C.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности набора.
- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.

Поставляемые реагенты:

| <u>Компонент</u>                  | <u>Кол-во</u> | <u>Номер</u> | <u>Описание</u>                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------|---------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл    | 56982        | Содержит все дезоксинуклеотид 5'- трифосфаты (dNTP) и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Дожидитесь полного оттаивания перед использованием и доведите до 20 - 25°C.                                                           |
| Раствор праймера DRB1             | 1 x 0,3 мл    | 56984        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился, и доведите до температуры 20 - 25°C. |
| Раствор праймера DRB1*03,11,13,14 | 1 x 0,07 мл   | 57952        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился, и доведите до температуры 20 - 25°C. |
| LiPA-Taq                          | 1 x 0,035 мл  | 700093       | Содержит ДНК-полимеразу «горячего старта» (2ед./мкл) в качестве консерванта. Хранить от -15 до -25°C до непосредственного использования.                                                                                                   |

### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК.

- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов (желательно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Автоклавированная дистиллированная вода.

## Правила техники безопасности и охрана окружающей среды

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).
- Только надлежащим образом обученный персонал должен быть допущен для проведения испытаний.
- Буферный раствор для амплификации, раствор праймера HLA-DRB1, раствор праймера HLA-DRB1 содержат азид натрия в качестве консерванта. Чтобы предотвратить образование высокотоксичного газа, избегайте контакта азид натрия с кислотами. Чтобы предотвратить образование взрывоопасного азид свинца или меди в водопроводной и канализационной сети, тщательно смойте остатки водой после удаления растворов, содержащих азид натрия.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциальным источником инфекции.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

## Сбор, подготовка и хранение образцов

### Выделение ДНК

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Образцы ДНК следует хранить при температуре от -15 до -25°C.

Выделенная ДНК должна иметь концентрацию  $\geq 0,02$  мкг/мкл. Чистота ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1,5$ . В случае получения ДНК высокой степени чистоты, используйте концентрацию ДНК, близкую к нижнему пределу в смеси для ПЦР.

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Реагенты не поставляются.

### Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Все компоненты следует добавлять в правильном количестве. Чрезмерное или недостаточное количество образца или реагентов может привести к аспецифической амплификации или к тому, что амплификация вообще не произойдет.

### Цикличность ПЦР

Следует выбрать правильный температурный профиль для «INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus».

## Примечания и меры предосторожности

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике.
- Избегайте обратного перемещения материалов из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.
- Все наконечники дозаторов и пробирки, которые используются в процессе амплификации, должны быть стерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозаторов с ватными пробками. Для каждого поделённого на аликвоты образца следует использовать новый стерильный наконечник дозатора.
- Реагенты для процессов амплификации всегда должны находиться в помещении, свободном от амплифицированной ДНК.  
Должны использоваться стерилизованные в автоклаве пробирки и наконечники дозаторов (желательно закрытые ватными пробками).
- После разморозки смешайте в вортекс-миксере Буферный раствор для амплификации и Раствор праймера и осадите путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA-Taq.

## Процедура проведения теста

- Данный протокол для амплификации экзона 2 аллелей DRB1 предназначен для оптимальной амплификации с использованием пробирок для ПЦР MicroAmp® (объёмом 0,2 мл) и термоциклеры ПЦР-системы 9700 GeneAmp®, а также LiPA-Taq. Данный протокол может использоваться для большинства коммерческих термоциклеров, однако может требовать некоторых изменений, указанных производителем термоциклера.
  - Перед использованием следует определить, совместим ли протокол с термоциклером, который используется в Вашей лаборатории. Перед использованием термоциклер должен быть обязательно откалиброван.
  - Следует принять необходимые меры предосторожности во избежание неспецифичной амплификации и формирования димеров праймера, что может негативно повлиять на результаты:
    - Выполните пипетирование на льду без задержки.
    - Предварительно нагрейте (до 95°C) нагревательный блок термоциклера перед тем, как поместить в него образцы, после чего немедленно начните процесс выполнения цикла.
1. Разбавьте каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 0,04 мкг/мкл в буферном растворе трис-ЭДТК.
  2. Определите количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:  
N = количество образцов ДНК + 1 (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1  
При помощи наконечников дозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовьте основной раствор в стерилизованной в автоклаве пробирке объёмом 1,5 мл:  
  
(N x 23,5 мкл) автоклавируемая дистиллированная вода  
+ (N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации  
+ (N x 10 мкл) раствор праймера DRB1  
+ (N x 1,5 мкл) LiPA-Taq (N x 2 ед.)  
  
Общий объем амплификационного раствора теперь составляет (N x 45 мкл).  
Быстро перемешайте на вортексе и распределите аликвотами 45 мкл этой исходной смеси (мастер-микс) в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).
  3. Отмерьте дозатором 5 мкл (0,1 – 0,2 мкг) раствора геномной ДНК.  
Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Не перемешивайте на вортексе и не смешивайте.
  - Проверьте, чтобы смесь для амплификации находилась на дне пробирки.
4. Поместите образцы в **предварительно нагретый и откалиброванный нагревательный блок** (см. инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, предназначенную для амплификации HLA-DRB1 (протокол I по ПЦР или протокол II по ПЦР) или программу, предназначенную для амплификации HLA-DRB1\*03,11,13,14 (протокол I по ПЦР).

| Протокол I по ПЦР  |                     |                         |         |                                    |
|--------------------|---------------------|-------------------------|---------|------------------------------------|
| Этап               |                     | Температура<br>± 0,75°C | Время   |                                    |
| 1                  | активация           | 95°C                    | 10 мин  |                                    |
| 2                  | денатурация         | 96°C                    | 5 мин   |                                    |
| 3                  | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | 5 раз повторить<br>этапы 3 - 5     |
| 4                  | отжиг праймеров     | 64°C                    | 50 сек. |                                    |
| 5                  | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                    |
| 6                  | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | 5 раз повторить<br>этапы 6 - 8     |
| 7                  | отжиг праймеров     | 62°C                    | 50 сек. |                                    |
| 8                  | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                    |
| 9                  | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | 10 раз<br>повторить<br>этапы 9-10  |
| 10                 | отжиг праймеров     | 60°C                    | 50 сек. |                                    |
| 11                 | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                    |
| 12                 | денатурация         | 96°C                    | 30 сек. | 15 раз<br>повторить<br>этапы 12-14 |
| 13                 | отжиг праймеров     | 55°C                    | 50 сек. |                                    |
| 14                 | достройка праймеров | 72°C                    | 50 сек. |                                    |
| 15                 | Удлинение           | 72°C                    | 10 мин  |                                    |
| 16                 | Удержание           | 4°C                     | 10 мин  |                                    |
| Протокол II по ПЦР |                     |                         |         |                                    |
| Этап               |                     | Температура<br>± 0,75°C | Время   |                                    |
| 1                  | активация           | 95°C                    | 10 мин  |                                    |
| 2                  | денатурация         | 95°C                    | 5 мин   |                                    |
| 3                  | денатурация         | 95°C                    | 20 сек. | 35 раз<br>повторить<br>этапы 3 - 5 |
| 4                  | отжиг праймеров     | 58°C                    | 20 сек. |                                    |
| 5                  | достройка праймеров | 72°C                    | 20 сек. |                                    |
| 6                  | Удлинение           | 72°C                    | 10 мин  |                                    |
| 7                  | удержание           | 4°C                     |         |                                    |

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Протокол I по ПЦР предназначен для:  
INNO-LiPA HLA-A; B; Bw4; C; DRB1; DRB1 амплификаций.
- Протокол II по ПЦР предназначен для:  
INNO-LiPA HLA-DRB1; DQA1; DQB1 амплификаций.

5. После процесса амплификации сразу же используйте образцы с полосой INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus или храните образцы при температуре от -15 до -25°C.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не храните амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты**

**Визуализация**

- Присутствие ампликонов может быть проверено 2% агарозным гелем.

- В каждый слот поместите 10 мкл амплифицированного продукта. После амплификации HLA-DRB1 появится ампликон в виде одной полосы размером 280 пар оснований.  
ПРИМЕЧАНИЕ:
  - Раствор праймера DRB1 – это набора праймеров, который может привести к образованию праймер-димеров. Они не повлияют на результаты теста.
- Наблюдения внутри компании показывают, что если видна полоса длиной ~ 280 пар оснований после проверки 10 мкл амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат следует получить с помощью анализа LiPA.

### Проверка достоверности

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении реакции амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует учитывать включение дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

### Ограничения процедуры

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может быть причиной полностью неудавшегося анализа.
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторная заморозка/разморозка образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Вследствие абберрантной последовательности аллеля DRB1\*1130 в позиции праймера HLA-DRB1 Plus, для данного аллеля амплификация не ожидается.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке праймера считается слишком низким, так как ошибка праймера еще никогда не наблюдалась. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.
- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведённых процедур обеспечивают специфическую амплификацию.

(\*) Аллели, описанные до октября 2003 г.

### Нормативные ссылки:

- Marsh SG, Bodmer JG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B и др. Номенклатура факторов системы HLA, 2000. Eur J Immunogenet 2001;28:377-424.
- IMGT/HLA База данных последовательностей. IMGT/HLA версия отчетов 1.9-2.3. [Http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla](http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla).

## **Эффективность анализа раствора праймера DRB1 в сочетании с протоколом II по ПЦР (DRB1; DQA1; DQB1)**

Оценка «INNO-LiPA HLA-DRB1» проводилась в трех европейских и двух американских лабораториях типирования тканей с использованием обычных образцов для типирования. В ходе исследования с использованием «INNO-LiPA HLA-DRB1» всего было проанализировано 243 образца. В ходе исследования ошибок амплификации «INNO-LiPA HLA-DRB1» не было.

## **Эффективность анализа раствора праймера DRB1 в сочетании с протоколом I по ПЦР (A; B; Bw4; C; DRB1; DRB1).**

Для того чтобы оценить эквивалентность протоколов I и II по ПЦР в компании были проанализированы 42 образца с использованием обоих методов. Все амплификации были успешными.

Методы извлечения ДНК включали: Puregene Blood Kit (Gentra Systems), QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) или внутренний метод высаливания. ДНК хранилась при температуре -20°C.

Чистота ДНК ( $A_{260}/A_{280}$ ) варьировалась от 1,0 до 2,2 (82 образца). Для семи образцов чистота не была известна; но они участвовали в анализе, так как остальные образцы, выделенные тем же методом, были хорошего качества. Концентрация после выделения варьировалась от 0,01 до 1,53 мкг/мкл. Перед амплификацией ДНК была разбавлена до концентрации 0,01 – 0,02 мкг/мкл, как указано в Листке-вкладыше. Для оценки использовались термоциклер GeneAmp® PCR PE-9600. Все амплификации были успешными с первой попытки.

### **Диапазон применения**

Внутренняя и независимая оценка показали успешную амплификацию с использованием 5 мкл извлеченной ДНК в диапазоне от 0,01 до 0,02 мкг/мкл.

### **Погрешность измерений**

Воспроизводимость (в рамках одного анализа), а также вариативность в рамках проведения нескольких анализов и разными людьми оценивались внутри компании. Один образец был амплифицирован в двух экземплярах, используя три различных термоциклера и обрабатывая по две серии опытов на термоциклер.

Данный протокол выполнялся в двух параллельных опытах двумя разными лицами. Значительных изменений не наблюдалось.

Изменение внутри партии оценивалось собственными силами посредством амплификации одного образца в трёх экземплярах, используя три разные партии праймеров. Все продукты ПЦР продемонстрировали сопоставимую интенсивность на 2% агарозном геле.

### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными торговыми знаками компании «Applied Biosystems, LLC».

(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FR85988**  
80634 INNO-LiPA HLA-B Update Plus  
28781 v7  
2020-01-23  
стр. 1/18  
Английский

## INNO-LiPA HLA-B Update Plus



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

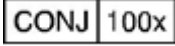
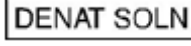
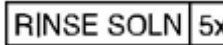
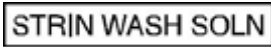
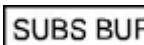


**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                                                                |                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые обозначения .....                                                                                 | 3                                      |
| Предусмотренное применение .....                                                                               | 4                                      |
| Принцип проведения испытания .....                                                                             | 4                                      |
| Реагенты .....                                                                                                 | 5                                      |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения .....                                    | 5                                      |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                                                                | 7                                      |
| Безопасность и окружающая среда .....                                                                          | 7                                      |
| Образцы .....                                                                                                  | 9                                      |
| Процедура работы .....                                                                                         | 9                                      |
| Работа с полосками .....                                                                                       | 9                                      |
| Указания по ручной инкубации .....                                                                             | 9                                      |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках .....                                                             | 10                                     |
| Замечания и меры предосторожности .....                                                                        | 10                                     |
| Процедура анализа ручным методом .....                                                                         | 11                                     |
| Образцы .....                                                                                                  | 11                                     |
| Денатурация и гибридизация .....                                                                               | 11                                     |
| Жёсткая промывка .....                                                                                         | 12                                     |
| Окрашивание .....                                                                                              | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Процедура автоматического анализа: Auto-LiPA .....                                                             | 13                                     |
| Результаты .....                                                                                               | 13                                     |
| Считывание .....                                                                                               | 13                                     |
| Подтверждение .....                                                                                            | 13                                     |
| Интерпретация результатов .....                                                                                | 14                                     |
| Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS .....                                                         | 14                                     |
| Ограничения процедуры: .....                                                                                   | 14                                     |
| Проведение анализа .....                                                                                       | 15                                     |
| <i>Проведение анализа, используя амплифицированную с помощью первичного раствора HLA-B Multiplex ДНК</i> ..... | 15                                     |
| Точность .....                                                                                                 | 15                                     |
| Разрешение (таблица типирования, версия v1.0/2001-03-31) .....                                                 | 15                                     |
| Реакционная способность зонда .....                                                                            | 16                                     |
| Чувствительность метода .....                                                                                  | 16                                     |
| Прецизионность .....                                                                                           | 16                                     |
| Проведение анализа, используя амплифицированную с помощью первичного раствора HLA-Bw4 ДНК .....                | 17                                     |
| Точность .....                                                                                                 | 17                                     |
| Разрешение (таблица типирования v.1.4/031010) .....                                                            | 17                                     |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| Реакционная способность зонда ..... | 18 |
| Чувствительность метода .....       | 18 |
| Прецизионность .....                | 18 |
| Торговые знаки .....                | 18 |

## Используемые обозначения

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Производитель                                                           |
|    | Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)  |
|    | Код партии                                                              |
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|  | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|  | Конъюгат разбавитель                                                    |
|  | Конъюгат 100x                                                           |
|  | Раствор для денатурирования                                             |
|  | Раствор для гибридизации                                                |
|  | Раствор для промывания 5x                                               |
|  | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски 1                                                               |
|  | Полоски 2                                                               |
|  | Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

## **Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-B Update Plus – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения *in vitro* (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) В аллелей на уровне аллельной группы.

### **Принцип проведения испытания**

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-B Update Plus для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 2 типизирующих полос, на которых находятся 66 последовательно-специфических зондов и 2 контрольных линии (Рисунок 1).

### **INNO-LiPA HLA-B Update Plus: шаги**

Шаг 1 Мультиплексная амплификация экзонов от 2 до 4 аллелей HLA-B

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 66 зондами, закрепленными на двух полосах INNO-LiPA HLA-B Update (56°C)

Шаг 3 Проявление цвета

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда

Шаг 5 При необходимости интерпретационное программное обеспечение LiRAS предложит, какой этап амплификации и гибридизации сделать следующим.

Если при использовании набора INNO-LiPA HLA-B Update Plus возникают несоответствия, включая аллели Bw4/Bw6, рекомендуется начать с (a) и продолжить с (b). Этот вариант будет предложен интерпретационным программным обеспечением LiRAS.

(a) до анализа с помощью полосок 1 и 2 INNO-LiPA HLA-B Update Plus провести амплификацию экзонов 2, 3, 4 аллелей HLA-B с помощью первичного раствора HLA-B Multiplex.

(b) до анализа с помощью полосок 1 INNO-LiPA HLA-B Update Plus провести специфическую для групп амплификацию экзона 2 аллелей HLA-Bw4 с помощью первичного раствора HLA-Bw4. При наличии первичного раствора HLA-Bw4 происходит амплификация экзона 2 аллелей HLA-Bw4. Экзон 2 других аллелей HLA-B, за исключением аллелей B\*4411, B\*4703 и B\*5708, не подвергается амплификации.

INNO-LiPA HLA-B Update Plus разработан с целью найти лучшее разрешение, используя метод обратной гибридизации на уровне аллельной группы (это отображается в двух первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA), напр. HLA-B\*07).

В дополнение к интерпретации группы аллеля, программное обеспечение предложит все возможные комбинации аллелей, однако эту информацию необходимо воспринимать как дополнительную, а не решающую.

## Реагенты

### *Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения*

- Все вскрытые и невскрытые и хранящиеся в оригинальных пробирках при температуре 2-8°C реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Набор должен храниться отдельно от любого источника заражённого ДНК, в особенности амплифицированных ДНК продуктов.
- Все реагенты необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

Предоставляемые реагенты:

| <b><u>Компонент</u></b>      | <b><u>Количество</u></b> | <b><u>Номер</u></b> | <b><u>Описание</u></b>                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски 1                    | 1 x 20                   | 58188               | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-B Update Plus с коричневой полосой отметки.                                                                                                                                                                  |
| Полоски 2                    | 1 x 20                   | 58189               | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-B Update Plus с жёлтой полосой отметки.                                                                                                                                                                      |
| Раствор для денатурации      | 1 x 1 мл                 | 56718               | Щелочной раствор с содержанием этилендиаминтетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                       |
| Раствор для гибридизации     | 2 x 80 мл                | 56719               | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования). |
| Раствор для жёсткой промывки | 2 x 200 мл               | 56720               | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы                                                           |

|                                                                         |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                         |            |       | должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Конъюгат разбавитель                                                    | 1 x 150 мл | 55671 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                                           | 1 x 1,5 мл | 60687 | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте.                 |
| Субстратный буфер                                                       | 1 x 235мл  | 55732 | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 1,5 мл | 55723 | Соль 5-бромо-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Раствор для промывания 5x                                               | 2 x 80 мл  | 56721 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% MIT/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизованной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение                                                                                                         |

|                       |   |                                                                |
|-----------------------|---|----------------------------------------------------------------|
| Планшет для инкубации | 5 | 2 недели при температуре 2-8°C.<br>Каждый содержит по 8 лунок. |
| Считывающая карта     | 1 | Для идентификации положительных зондов.                        |
| Листок учёта данных   | 2 | Для хранения отработанных полосок.                             |

**Не предоставляемые необходимые материалы:**

- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56 °C+/-0.5 °C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

Рекомендации по использованию:Орбитальных шейкеров:

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

Возвратно-поступательных шейкеров:

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

Колебательных шейкеров с платформой:

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.
- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа (±1 минута).

**Безопасность и окружающая среда**

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий.

Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)

H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363

**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5x)

H317 P261 P280 P333+P313 P363 P302+P352



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолий дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x H312 H319 H332 H360D P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

*Краткая характеристика опасностей*

H312 Опасен при соприкосновении с кожей.  
 H314 Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз.  
 H317 Может вызвать на коже аллергическую реакцию.  
 H319 Вызывает сильное раздражение глаз.  
 H332 Опасен при вдыхании.  
 H360D Может навредить будущему ребёнку

*Меры предосторожности*

P201 Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.  
 P260 Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.  
 P261 Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.  
 P280 Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.  
 P281 Используйте средства личной защиты согласно требованиям.  
 P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.  
 P303+P361+P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой под душем.  
 P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание.  
 P308+P313 Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.  
 P310 Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.  
 P333+P313 При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.  
 P363 Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.

- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.
  - Прозеинфицировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
  - Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
  - Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия.

Перед уничтожением дать постоять ночь. **ВНИМАНИЕ:** перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоты.

- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

### **Образцы**

Так как тест INNO-LiPA HLA-B Update использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, набор для амплификации INNO-LiPA HLA-B Multiplex предоставляется в качестве дополнительного инструмента.

### **Процедура работы**

#### ***Работа с полосками***

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте **карандаш** для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До расшифровки, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.
- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25 °C.
- Не используйте повторно лунки.

#### ***Указания по ручной инкубации***

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-негативных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани с качающейся платформой во время инкубации, чтобы избежать появления ложно-положительных сигналов.
- Не используйте шейкер с горячим воздухом для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для окрашивания должны проходить при температуре между 20 и 25°C. Если температура ниже 20 °C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.



- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания.
- Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. Тем не менее следует не допускать проливание жидкостей за пределами лунок! Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперед таким образом, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунок.
- Не накрывайте планшет. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

#### ***Указания по ручной замене жидкостей в лунках***

- Жидкость удаляется из лунки с помощью пипетки, желательной присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетекать из одного конца в лунку.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола.  
Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения анализа.

Заметка:

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Высасывайте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

#### **Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждой аликвоты образца.

- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

#### **Процедура анализа ручным методом**

- Заметка: В течение разных инкубационных этапов индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации, с помощью калибровочного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

#### **Образцы**

1. Амплифицированный HLA-B продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-B Multiplex. Заметка: Убедитесь, что добавили именно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к ошибочным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль) используйте 10 мкл).

#### **Денатурация и гибридизация**

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество Полосок 1 и Полосок 2 INNO-LiPA HLA-B Update из колбы (по одной полоске 1 и 2 для тестового образца INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus, одну полоску 1 для ампликона INNO-LiPA HLA-Bw4). Внесите обе полоски в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше коричневой/жёлтой линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (две лунки на один тестовый образец HLA-B Multiplex Plus и одну лунку для тестового образца Bw4) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.  
Примечание: Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы; ознакомьтесь с инструкцией по использованию INNO-LiPA HLA-B Multiplex) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять 5 минут при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ .
6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждую лунку. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте инфицирования соседних лунок во время работы с пипеткой.

7. Немедленно положите полоску в лунку. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

Примечание: Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет

8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.

Примечание: Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между  $1/3$  и  $1/2$  высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### **Жёсткая промывка**

1. После гибридизации, достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательной присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 3 минут.
3. После инкубации достаньте планшет из водяной бани и удалите жидкость из лунки.
4. Повторите ещё раз этап трёхминутной инкубации и этап аспирации.
5. В конце, добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 4 минут. До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.

Примечание: В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

### **Окрашивание**

Последующая инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации, жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Промывайте каждую полоску в течение 1 минуты, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Инструкцию по замене жидкости в лунках).
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение 30 минут, взбалтывая планшет в шейкере.

Примечание: Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.

3. Промойте каждую полоску дважды по 1 минуте с использованием 2мл рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение 30 минут, взбалтывая планшет в шейкере.

ВНИМАНИЕ: Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.

5. Остановите проявление цвета, промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее 3 минут.
6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до анализа результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### Процедура автоматического анализа: *Auto-LiPA*

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой.

Стандартный 48 протокол *Auto-LiPA* описывает анализ 24 образцов с использованием одной полоски на одну лунку. Это количество, однако, может быть увеличено до максимального – 48. Для выполнения этого две полоски из одного локуса тестируются в одной лунке, сохраняя все остальные параметры протокола неизменными. Обратите внимание на то, что изредка может наблюдаться более слабая реакционная способность зондов. Следовательно, покупателям, желающим увеличить количество образцов, рекомендуется проверить процедуру «2 полоски в одной лунке» в своей лаборатории.

Для получения более подробной информации и специфических условий использования *Auto-LiPA*, пожалуйста, обратитесь в компанию «Fujirebio Europe N.V.» или к Вашему местному распространителю.

### Результаты

#### Считывание

На рисунке 1 показано расположение разных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-B Update. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.

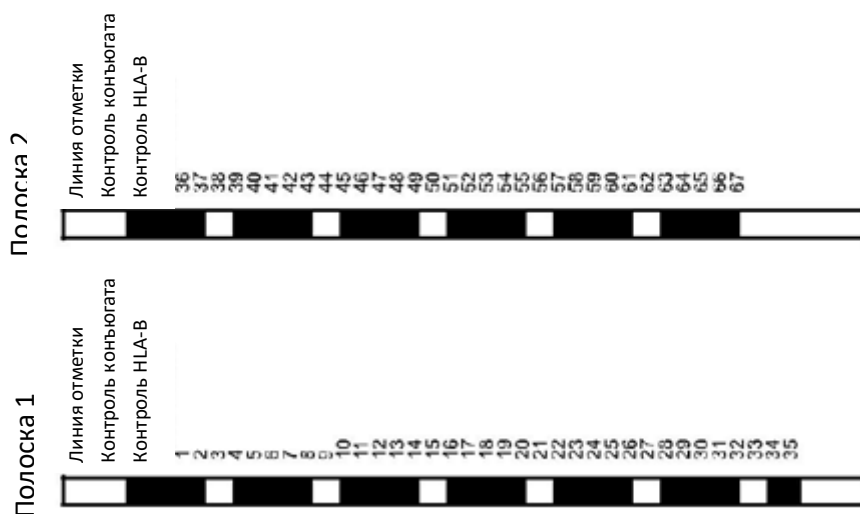


Рисунок 1: местоположение линии отметки (коричневой линии на Полоске 1 и жёлтой линии на Полоске 2), контрольная линия конъюгата, контрольная линия HLA-B Update Plus, 66 последовательно-специфических зонда на полосках INNO-LiPA HLA-B Update.

#### Подтверждение

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.

- Самые верхние линии на INNO-LiPA HLA-B Update полосках (Рисунок 1) являются линиями отметки (коричневые и жёлтые линии). Эти линии позволяют правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной (если нет: нельзя производить интерпретацию!) и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.
- Следующая линия – линия внутреннего контроля гибридизации HLA-B Update (контроль HLA-B на считывающей карте), которая показывает, достаточное ли количество амплифицированного материала было добавлено для гибридизации. Эта линия всегда должна быть положительной, за исключением негативного контроля амплификации HLA-B Multiplex, но её яркость может отличаться от одного образца к другому.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может отличаться от одной линии к другой.

#### **Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первых двух линий).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-B Update Plus и определите тип HLA-B, используя таблицу типирования INNO-LiPA HLA-B Update Plus или версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS). Программное обеспечение зачастую предлагает больше результатов, чем предполагается при использовании: даётся интерпретация на уровне аллельных групп и все возможные комбинации аллелей. Однако эту информацию следует считать дополнительной, но не решающей.

#### **Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Чтобы получить последнюю обновлённую версию, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

#### **Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- INNO-LiPA HLA-B Update Plus полоски были созданы, чтобы провести разрешение на уровне аллельной группы (B\*07 до B\*83). Тем не менее, комбинация некоторых аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и, следовательно, к

неопределённому результату в виде двух или более возможных сочетаний аллельных групп.

- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмом за пределами области зондов.
- Контрольные линии HLA-B Update являются характерными не только для HLA-B, но и практически для всех HLA-A и HLA-C аллелей. Следовательно, контрольные линии HLA-B могут вступать в реакции с продуктами амплификации HLA-A и HLA-C.

#### **Проведение анализа**

##### ***Проведение анализа, используя амплифицированную с помощью первичного раствора HLA-B Multiplex ДНК***

Проведение анализа с INNO-LiPA HLA-B Update оценивалось в 4 европейских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования. Всего было проанализировано 347 образцов. ДНК была выделена из свежего или замороженного образца крови с добавлением этилендиаминтетрауксусной кислоты (против коагуляции) или с цитратным антикоагулянтом. Методами выделения ДНК являлись: высаливание, набор QIAamp 96 DNA blood kit (Qiagen), набор для выделения геномной ДНК (Promega) и набор реагентов Puregene (Gentra Systems). Свежая или замороженная ДНК амплифицировалась с помощью термоблоков PE 9600 или PE 9700 системы GeneAmp PCR. До нанесения на полоски ампликоны хранились при температуре 2-8°C или -15/-25°C.

Никаких ошибок амплификации не обнаружилось, хотя повторный анализ потребовался для двух образцов из одного центра. Образцы обрабатывались с помощью приборов Auto-LiPA и интерпретировались с помощью клинической испытательной версии интерпретационного программного обеспечения LiRAS.

#### ***Точность***

Результат типирования HLA-B был получен для 342 из 347 образцов. Проведение повторного анализа было необходимо для 4 образцов из одного центра. Результатом одного образца стала «невозможность произвести типирование», но, согласно исследователю, это могло произойти вследствие заражения ДНК. Для 4 образцов из одного центра исследователь не получил никакого результата типирования, хотя для одного из них можно было найти решение путём внесения изменений.

Точность на уровне аллельной группы подсчитывалась как процент наблюдавшихся совпадений с альтернативными анализами ДНК (Biotest ELPHA HLA-AB LowRes Typing kit, Dynal SSP, LiPA HLA-B, секвенирование, Micro SSP, OLERUP SSP, Biotest HLA-B SSP). Результаты INNO-LiPA HLA-B Update рассматривались как схожие с результатом эталонного анализа, если оба результата были идентичны, если результаты INNO-LiPA HLA-B Update были более точными по сравнению с результатом эталонного анализа, или если результаты INNO-LiPA HLA-B Update показали более низкую степень разрешения, но верный результат в сравнении с эталонным методом.

Точность составила 100% (342/342).

#### ***Разрешение (таблица типирования, версия v1.0/2001-03-31)***

INNO-LiPA HLA-B Update разработан с целью разрешить аллели HLA-B на уровне аллельной группы, т.е. и на одном, и на разных серологических уровнях. «Аллельная группа» – обозначение двух первых символов после звёздочки в стандартной классификации HLA (напр. HLA B\*07). Более того, набор разработан с целью обнаружить

следующие молчащие аллели: 0808N (экзон 3), 1526N (экзон 3), 5111N (экзон 4). Разрешение на уровне аллельной группы в ходе данного исследования составляет 92.4%. (316/342).

Выявленные несоответствия: В\*08хВ\*51 или В\*08хВ\*78 (8 случаев), В\*15хВ\*35 или В\*15хВ\*15 (2 случая), В\*35хВ\*38 или В\*39хВ\*53 (2 случая), В\*08хВ\*38 или В\*08хВ\*39 (2 случая), В\*15хВ\*51 или В\*15хВ\*52 или В\*15хВ\*78 (2 случая), В\*35хВ\*51 или В\*53хВ\*78 (2 случая), В\*35хВ\*38 или В\*35хВ\*53 (1 случай), В\*35хВ\*49 или В\*50хВ\*53 (1 случай), В\*35хВ\*47 или В\*53хВ\*47 (1 случай), В\*40хВ\*78 или В\*40хВ\*52 (1 случай), В\*35хВ\*55 или В\*35хВ\*56 (1 случай), В\*15хВ\*49 или В\*15хВ\*50 (1 случай), В\*49хВ\*78 или В\*50хВ\*51 (1 случай), В\*15хВ\*51 или В\*52хВ\*78 (1 случай).

Результат несоответствия был получен и для INNO-LiPA HLA-B Update, и для эталонного анализа в шести из этих случаев. Два несоответствия (6 образцов), выявленные эталонным методом, с помощью анализа INNO-LiPA HLA-B Update были сведены к одному строго определённого результату типирования.

#### ***Реакционная способность зонда***

Четыре зонда реагировали ложно-положительно, и девять зондов реагировали слабо или ложно-отрицательно в одном или более случаях в течение данного клинического испытания. Данная информация, если ещё не была представлена, была реализована в программном обеспечении и/или руководствах с целью облегчить последующее типирование. С использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS были выявлены все ложные реакционные способности и было достигнуто сопутствующее типирование на уровне аллельной группы.

Обратитесь к руководству для получения дополнительной информации о реакционной способности зонда.

Доступен полный список характеристик зондов и праймера. Все зонды предназначены для гибридизации в комплементарной последовательности на уровне одного несовпадения, если иное не указано в списке.

#### ***Чувствительность метода***

Внутренняя оценка серии растворов 3-х образцов ДНК с концентрацией, варьирующейся от 0.01мкг/мкл до 2мкг/мкл, показала, что рекомендовано использование ДНК с минимальной концентрацией 0,1 мкг/мкл.

Внешняя оценка включала 347 образцов ДНК с концентрацией между 20 мкг/мкл и 1500 мкг/мкл и со степенью гомогенности ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ )  $\geq 1.5$ .

ДНК до амплификации растворялась до степени концентрации между 20µg/µl и 250µg/µl. Ошибок амплификации не встречалось, хотя для одного образца потребовался повторный тест.

#### ***Прецизионность***

##### **Внутренние данные:**

В четырёх параллельных анализах двумя разными людьми ручным методом или одним человеком на двух разных приборах Auto-LiPA анализировались три образца. Два образца испытывались на трёх разных участках в двух разных сериях опытов. Интерпретация результатов была одинаковой для всех образцов. Реакционная способность зондов была сопоставима во всех случаях.

##### **Внешнее подтверждение:**

- вариативность между партиями оценивалась путём анализа панели (5 образцов с известной реакционной способностью и интерпретацией) с двумя разными пробами продукции. Для каждого образца был получен один и тот же результат типирования независимо от использовавшейся пробы.
- межлабораторная вариативность оценивалась путём анализа одной и той же панели четырьмя центрами. Все центры получили одинаковые результаты типирования для пяти образцов.

### ***Проведение анализа, используя амплифицированную с помощью первичного раствора HLA-Bw4 ДНК***

Использование первичного раствора HLA-Bw4 в INNO-LiPA HLA-B Multiplex Plus оценивалось организацией-производителем и двумя бельгийскими лабораториями типирования тканей. Всего анализировалось 82 безымянных образца (50 образцов в других организациях; 32 – организацией-производителем). Все образцы предварительно были типированы с помощью INNO-LiPA HLA-B Update. Среди образцов было 31 противоречивый (18 с разными противоречиями) и 51 непротиворечивый образец. Все противоречивые образцы были позднее типированы с одним результатом анализов типирования, основанных на одной или более альтернативных ДНК.

Гибридизация проводилась с помощью приборов *Auto-LiPA* и программы HLA56v3. Интерпретация проводилась с помощью испытательной клинической версии LiRAS для интерпретационного программного обеспечения LiPA HLA v3.00.

### ***Точность***

Расчёты диагностической точности проводились только на тех образцах, которые были успешно амплифицированы и достигли одного эталонного результата. Как следствие, 2 образца были исключены из этого подсчёта. Уникальный эталонный результат был получен остальными 80 образцами.

Диагностическая точность анализа на уровне аллельных групп рассчитывалась по количеству полученных верных результатов типирования в сравнении с уникальным эталонным результатом, полученным с помощью INNO-LiPA HLA-B Update (компания «Fujirebio Europe N.V.») или альтернативного анализа типирования (Olerup SSP (GenoVision), SBT (Abbott), Biotest HLA-B SSP (Biotest), Allset+ HLA-B Low Resolution (Dynal) и определение последовательности аминокислотных остатков в белках (метод организации-производителя)).

Результаты типирования всех 80 образцов были сходны с эталонным анализом, следовательно, точность составила 100% (80/80; 95% CI [95,5%; 100%]).

### ***Разрешение (таблица типирования v.1.4/031010)***

Первичный раствор HLA-B Multiplex, использовавшийся в комбинации с полосками INNO-LiPA HLA-B Update, предусмотрен для типирования аллелей HLA-B на уровне аллельных групп.

Первичный раствор HLA-Bw4, использовавшийся в комбинации с полоской 1 INNO-LiPA HLA-B Update, предусмотрен для разрешения наиболее часто возникающих несоответствий, т.е. несоответствий с аллелями Bw4/Bw6.

Все несоответствия на уровне аллельных групп, выявленные после анализа первичным раствором HLA-B Multiplex, были сведены к однозначному результату типирования с помощью первичного раствора HLA-Bw4: B\*08, B\*38 или B\*08, B\*39 (2 случая); B\*08,



В\*51 или В\*08, В\*78 (4 случая); В\*13, В\*49 или В\*13, В\*50 (2 случая); В\*15, В\*38 или В\*15, В\*39 (1 случай); В\*15, В\*51 или В\*15, В\*52 или В\*15, В\*78 (1 случай); В\*15, В\*51 или В\*15, В\*52 или В\*15, В\*78 или В\*35, В\*52 (1 случай); В\*35, В\*38 или В\*39, В\*53 (4 случая); В\*35, В\*40 или В\*40, В\*53 (1 случай); В\*35, В\*47 или В\*47, В\*53 (1 случай); В\*35, В\*49 или В\*50, В\*53 (2 случая); В\*35, В\*52 или В\*53, В\*78 (2 случая); В\*38, В\*44 или В\*39, В\*44 (1 случай); В\*38, В\*50 или В\*39, В\*49 (1 случай); В\*38, В\*78 или В\*39, В\*51 (1 случай); В\*40, В\*49 или В\*40, В\*50 (2 случая); В\*41, В\*53 или В\*42, В\*53 (1 случай); В\*44, В\*49 или В\*44, В\*50 (2 случая).

Интерпретационное программное обеспечение LiRAS для всех неоднозначных результатов предложило амплификацию Bw4 с последующей гибридизацией с помощью полоски 1 INNO-LiPA HLA-B Update.

#### ***Реакционная способность зонда***

В ходе данного исследования в одном или нескольких случаях некоторые зонды реагировали слабо. Конкордантное типирование на уровне аллельной группы было достигнуто с использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS.

#### ***Чувствительность метода***

Чувствительность метода анализа на уровне аллельной группы рассчитывалась как количество успешных результатов типирования из общего числа анализируемых образцов. Чувствительность метода в данном случае, после одного повторного исследования амплификации четырёх образцов, составила 98,8%. (81/82; 95% CI [93?4%; 100%]). Образец, амплификация которого не произошла после повторного исследования в центре, был успешно амплифицирован в организации-производителе, и был получен правильный результат типирования.

#### ***Прецизионность***

Повторяемость (внутри исследования), а также вариативность между исследованиями и между людьми оценивалась организацией-производителем. Один образец, амплифицированный в двух параллельных анализах с использованием трёх разных циклеров и проведением двух серий опытов для каждого циклера, анализировался с помощью Auto-LiPA.

Эти условия выполнялись двумя разными людьми в двух параллельных анализах.

Значительных различий не наблюдалось, и во всех случаях без необходимости внесения изменений был получен одинаковый результат типирования.

#### **Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.
- GeneAmp является торговым знаком Аплиед Биосистемс, ЛЛС.
- QIAamp® и Purigene® являются зарегистрированными торговыми знаками компании «QIAGEN Group»

(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FR92774**  
80635 INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus  
28827 v7  
2020-10-26  
стр. 1/18  
Английский

## INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР, БР, КО, УР, +800 135 79 135  
АВ, НЗ, РФ

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн | Вт | Ср | Чт | Пт | Сб | Вс |
|----|----|----|----|----|----|----|
| ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☒  | ☐  | ☐  |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                               | 2  |
| Предусмотренное применение .....                                            | 3  |
| Принцип проведения анализа.....                                             | 3  |
| Реагенты .....                                                              | 4  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения ..... | 4  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                             | 6  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                       | 7  |
| Образцы.....                                                                | 8  |
| Процедура работы.....                                                       | 8  |
| Работа с полосками .....                                                    | 8  |
| Указания по ручной инкубации .....                                          | 9  |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках.....                           | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                      | 10 |
| Процедура анализа ручным методом.....                                       | 10 |
| Образцы.....                                                                | 10 |
| Денатурация и гибридизация.....                                             | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                       | 11 |
| Окрашивание .....                                                           | 12 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> .....                   | 12 |
| Результаты.....                                                             | 12 |
| Считывание.....                                                             | 12 |
| Подтверждение.....                                                          | 13 |
| Интерпретация результатов .....                                             | 13 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....               | 14 |
| Ограничения процедуры:.....                                                 | 14 |
| Проведение анализа .....                                                    | 14 |
| Торговые знаки .....                                                        | 18 |

**Используемые обозначения**

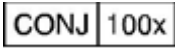
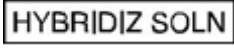
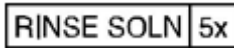
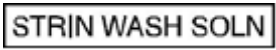
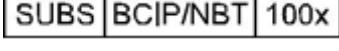
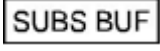
Производитель



Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)



Код партии

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|    | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|    | Конъюгат разбавитель                                                    |
|    | Конъюгат 100x                                                           |
|    | Раствор для денатурирования                                             |
|    | Раствор для гибридизации                                                |
|    | Раствор для промывания 5x                                               |
|   | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски                                                                 |
|  | Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

### Предусмотренное применение

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения *in vitro* (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей DRB1 человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) на уровне аллельных групп (DRB1\*01 до DRB1\*16).

### Принцип проведения анализа

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее

образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA- DRB1 Amp Plus). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 1 типизирующей полосы, на которой находятся 37 последовательно-специфических ДНК зондов и 2 контрольные линии (Рисунок 1).

#### **INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus: шаги**

Шаг 1 Амплификация экзона 2 аллелей HLA- DRB1

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 37 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus (56°C)

Шаг 3 Проявление цвета

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда

Шаг 5 При необходимости, интерпретационное программное обеспечение LiRAS даёт советы касательно последующих этапов амплификации и гибридизации.

Если при использовании набора INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus возникают несоответствия с аллелями DRB1\*03, 11 13 и 14, рекомендуется начать с (а) и продолжить с (b). Этот шаг будет предложен интерпретационным программным обеспечением LiRAS.

(а) до анализа с помощью полоски INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus провести амплификацию экзона 2 аллелей HLA- DRB1 с помощью первичного раствора HLA- DRB1.

(b) до анализа с помощью полоски INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus провести специфическую для групп амплификацию экзона 2 аллелей HLA- DRB1\*03, 11 13 и 14 с помощью первичного раствора HLA- DRB1\*03, 11 13 и 14. При наличии первичного раствора HLA- DRB1\*03, 11 13 и 14 происходит амплификация экзона 2 аллелей DRB1\*03, 11 13 и 14. Экзон 2 других аллелей DRB1, за исключением аллеля DRB1\*0820, не подвергается амплификации.

INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus разработан с целью найти лучшее разрешение используя метод обратной гибридизации на уровне аллельной группы (т.е. двух первых символов после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA), например, HLA-DRB1\*01).

В дополнение к интерпретации аллельной группы программное обеспечение предложит все возможные сочетания аллелей. Тем не менее, эту информацию следует воспринимать как дополнительную, а не решающую.

#### **Реагенты**

##### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все вскрытые и невскрытые и хранящиеся в оригинальных пробирках при температуре 2 – 8°C реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
- Набор должен храниться отдельно от любого источника заражённого ДНК, в особенности амплифицированных ДНК продуктов.

- Все реагенты необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

*Предоставляемые реагенты:*

| <b><u>Компонент</u></b>      | <b><u>Количество</u></b> | <b><u>Номер</u></b> | <b><u>Описание</u></b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                      | 1 x 20                   | 58191               | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus с чёрной полосой отметки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Раствор для денатурации      | 1 x 1 мл                 | 56718               | Щелочной раствор с содержанием этилендиамина тетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Раствор для гибридизации     | 1 x 80 мл                | 56719               | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                |
| Раствор для жёсткой промывки | 1 x 200 мл               | 56720               | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                            |
| Конъюгат разбавитель         | 1 x 80 мл                | 56951               | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Конъюгат 100x                | 1 x 0,8 мл               | 60685               | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при |

|                                                                         |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Субстратный буфер                                                       | 1 x 180 мл | 56953 | комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 0,8 мл | 56954 | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Раствор для промывания 5x                                               | 1 x 80мл   | 56721 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% MIT/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизованной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.                                                                         |
| Инкубационный планшет                                                   | 3          |       | Каждый содержит по 8 лунок.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Считывающая карта                                                       | 1          |       | Для определения положительных зондов.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Листок учёта данных                                                     | 2          |       | Для хранения отработанных полосок.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

**Не предоставляемые необходимые материалы:**

- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56°C±0,5°C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

Рекомендации по использованию:Орбитальных шейкеров:

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

*Возвратно-поступательных шейкеров:*

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

*Колебательных шейкеров с платформой:*

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.
- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа ( $\pm 1$  минута).

**Безопасность и окружающая среда**

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий.

Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P363



**Опасность:** N,N-Диметилформаид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолиум дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х  
H312 H319 H332 H360D  
P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

*Краткая характеристика опасностей*

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

*Меры**предосторожности*

|      |                                                                              |
|------|------------------------------------------------------------------------------|
| P201 | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                             |
| P260 | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                             |
| P261 | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                   |
| P280 | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица. |



|                |                                                                                                                                                                         |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                                                                                |
| P302+P352      | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.                                                                                                        |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой под душем.                                                        |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание. |
| P308+P313      | Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                                        |
| P310           | Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.                                                                                                            |
| P333+P313      | При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.                                                                                          |
| P363           | Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.                                                                                                          |

- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа.

Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.

- Прозеинфицировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
- Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
- Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия.

Перед уничтожением дать постоять ночь. **ВНИМАНИЕ:** перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту.

- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

### **Образцы**

Так как анализ LiPA в качестве образца использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации набор для амплификации INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus.

### **Процедура работы**

#### ***Работа с полосками***

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте карандаш для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.

- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До расшифровки, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.
- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25 °C.
- Не используйте повторно лунки.

#### **Указания по ручной инкубации**

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание получения ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-отрицательных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда **закрывайте** крышку водяной бани с качающейся платформой во время инкубации, чтобы избежать получения ложно-положительных сигналов.
- **Не используйте шейкер с горячим воздухом** для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для окрашивания должны проходить при температуре между 20 и 25 °C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.
- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее следует не допускать проливание жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперёд так, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунок.
- Не накрывайте планшет. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

**Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательна присоединённая к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетечь в один конец лунки.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Erpendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения теста.

Заметка:

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Удаляйте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

**Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами после и до амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждого образца аликвоты.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

**Процедура анализа ручным методом**

- Заметка: В течение разных инкубационных этапов, индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

**Образцы**

1. Амплифицированный DRB1 продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями по использованию INNO-LiPA HLA- DRB1 Amp Plus.
  - Заметка: Убедитесь, что добавили именно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к ошибочным результатам типирования.

2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль) используйте 10 мкл).

### ***Денатурация и гибридизация***

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество полосок INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus из колбы (по одной полоске для каждого тестового образца). Внесите обе полоски в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше чёрной линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.
  - Примечание: Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы; ознакомьтесь с инструкцией по использованию INNO-LiPA HLA-DRB1 Amp Plus) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять **5 минут** при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ .
6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждую лунку. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте инфицирования соседних лунок во время работы с пипеткой.
7. Немедленно положите полоску в лунку вверх отмеченной стороной мембраны. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.
  - Примечание: Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет
8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение 30 минут.
  - Примечание: Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между  $1/3$  и  $1/2$  высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательно присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку и недолго (10-20 секунд) потрясите планшет при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ . Удалите раствор из каждой лунки. Ещё раз повторите короткий этап промывки.

3. В конце, добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение 4 минут. **До начала процесса инкубации с помощью калиброванного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

- Примечание: В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

### **Окрашивание**

Последующая инкубация проводится в шейкере при температуре **20-25°C**. В процессе инкубации жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Промывайте каждую полоску в течение **1 минуты**, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Инструкцию по замене жидкости в лунках).
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

- Примечание: Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.

3. Промойте каждую полоску дважды по минуте с использованием рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

- **ВНИМАНИЕ:** Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.

5. Остановите проявление цвета, промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.
6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до анализа результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### **Процедура автоматического анализа: Auto-LiPA**

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. За более подробной информацией и специфическими условиями использования *Auto-LiPA*, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

### **Результаты**

#### **Считывание**

Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.



*Рисунок 1: расположение линии отметки (чёрной линии), контрольная линия конъюгата, контрольная линия HLA-DRB1 Plus, 37 последовательно-специфических зондов ДНК на полосках INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus.*

### **Подтверждение**

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль. Как и с любой новой процедурой, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самые верхние линии на INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus полосках (Рисунок 1) являются линиями отметки (чёрная линия). Эти линии позволяют правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.
- Следующая линия – линия положительного контроля HLA-DRB1 Plus (контроль HLA-DRB1 на считывающей карте), которая показывает, достаточно ли количество амплифицированного материала HLA-DRB1 было добавлено для гибридизации. Эта линия всегда должна быть положительной, но её яркость может отличаться от одного образца к другому.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

### **Интерпретация результатов**

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первых двух линий).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus и определите тип DRB1, используя таблицу типирования INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus или версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS).

Часто программное обеспечение предлагает больше результатов, чем предполагаемое использование: даётся интерпретация на уровне аллельной группы, а также все возможные сочетания аллелей. Тем не менее, эту информацию следует считать дополнительной, а не решающей.

### **Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA. Чтобы получить последнюю обновлённую версию, пожалуйста, обратитесь к Вашему местному распространителю.

### **Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus разработан для разрешения на уровне аллельных групп HLA-DRB1 (т.е. первых двух символов после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации HLA, например HLA-DRB1\*01).

Однако комбинация некоторых аллелей может привести к неоднозначному сочетанию зондов и, следовательно, к неопределённому результату в виде двух или более возможных сочетаний аллельных групп. Знание частотности аллелей у исследуемой популяции определит наиболее вероятный тип DRB1. В случае, когда требуется типирование более высокого разрешения, используйте набор INNO-LiPA HLA-DRB decoder.

- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмом за пределами области зондов.
- Последовательность участка связывания праймеров известна не для всех аллелей. Риск несовпадений на участке связывания праймеров оценивается как очень низкий, т.к. ошибок праймера не наблюдалось и более 80 аллелей из всех групп были проанализированы. Однако, возможность выпадения аллеля не исключается в случае получения гомозиготного результата.

### **Проведение анализа**

#### ***Проведение анализа с использованием ДНК, полученной с первичным раствором DRB1 в сочетании с PCR протоколом II (DRB1; DRB1+3+4+5; 86G; 86 V; DQB1)***

Проведение INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus оценивалось в 3 европейских лабораториях типирования тканей на обычных образцах для типирования.

Всего с INNO-LiPA HLA-DRB1 было проанализировано 243 образца. Результаты сравнивались с принятыми классическими техниками типирования (анализы, основанные на ДНК (INNO-LiPA HLA-DRB код/дешифровщик, SSP) и/или серологией).

В ходе исследования INNO-LiPA HLA-DRB1 не наблюдалось ошибок амплификации.

#### ***Реакционная способность зонда***

Всего 74 ложно-положительных диска было выявлено с помощью INNO-LiPA HLA-DRB1. Ложно-отрицательных дисков в процессе исследования выявлено не было. Доступен полный список особенностей зондов и праймера. Все зонды предназначены исключительно для гибридизации в комплементарной последовательности на уровне

одного несовпадения, если иное не указано в списке. Отчёт о контроле качества реакционных способностей доступен по запросу для целей аккредитации.

#### *Область применения*

Нижняя граница области применения определялась с использованием титрации ДНК. Всего лишь 0,05 мкг экстракта ДНК ( $A_{260nm}/A_{280nm} > 1,5$ ) может быть использована в сопутствующем анализе амплификации, оставляя более чем достаточно ДНК для выявления в LiPA.

#### *Разрешение (Таблица типирования: K-1067/v.5.x/1998-02-20)*

Полоски INNO-LiPA HLA-DRB1, с 37 зондами, закреплёнными в виде параллельных линий, позволяют типирование аллельной группы DRB1. Теоретическое разрешение на широком уровне (DRB1\*01 до DRB1\*16) определяется как 89,3%. В ходе исследования разрешение аллельных групп достигло 86,8% (211/243). Всего описано 32 результата несоответствий. Они возникли из 7 комбинаций зондов и определялись следующими сочетаниями аллелей:

DRB1\*03 х \*11/\*13 (8 образцов)

DRB1\*04 х \*11/\*13 (3 образца)

DRB1\*01 х \*13/\*14 (3 образца)

DRB1\*04 х \*13/\*14 (6 образцов)

и DRB1\*03 х \*13/\*15 (12 образцов).

Один антиген являлся несоответствием для DRB1\*11/\*13 в 11/83 (13,3%) образцах, в которых присутствовал либо DRB1\*11, либо DRB1\*13. Программное обеспечение LiPA-Expert определило эти вызывающие несоответствия аллели следующим образом: DRB1\*0308 х \*1324 (два образца), DRB1\*0415х\*1322/\*1323 (три образца) и DRB1\*0308 х \*1305/\*1307/\*1311/\*1314с75L/\*1314с75V (шесть образцов).

При наличии DRB1\* 03, где DRB1\*13 задается как альтернативная аллельная группа DRB1\*11, особенный DRB1\*03 аллель в каждом случае DRB1\* 0308. Этот аллель описывается как имеющий очень похожую последовательность с DRB1\*03011 за исключением кодона 58, где имеется сходство с DRB1\*11 аллельной группы. Кроме того, и DRB1\*0308, и специфический DRB1\*13 аллели (DRB1\*1305,\*1307,\*1311,\*1314 и \*1324), с которым он вызывал несоответствие, характеризуются как имеющие низкую частотность.

При наличии DRB1\*04, любой из двух редких аллелей DRB1\*13 (\*1322, \*1323) дается в качестве альтернативы типированию DRB1\*11 аллельной группы, и единственный DRB1\*04 аллель, с которым он упоминался – DRB1\*0415. Документально подтверждённое сходство последовательностей между особенным DRB1\*13 аллелем и DRB1\*11 аллельной группой. Частотность аллелей DRB1\*13 аллелей, вызывающих неоднозначности, и DRB1\*0415 аллеля также считается низкой.

Один антиген являлся несоответствием для DRB1\*13/\*14 в 9/66 (13,6%) образцах, когда имелся либо DRB1\*13 или DRB1\*14. Программное обеспечение LiPA-Expert определило эти вызывающие несоответствия аллели следующим образом: DRB1\*0103 X \*1417/\*1430 (три образца), DRB1\*0402/\*0414с13H х \*1421 (пять образцов) и DRB1\*0402/\*0414 х \*1417/\*1430 (один образец).

При наличии DRB1\*04, редкие и выше описанные аллели DRB1\*14 (\*1417, \*1421 и \*1430) давались в качестве альтернативы типированию аллельной группы DRB1\*13. Специфически альтернативы DRB1 \*14 (\*1417 и \*1430 – см. выше) к аллелям DRB1 \*13 при наличии DRB1\*01 будут, как ожидается, встречаться редко.



Один антиген явился несоответствием для DRB1 \*13/\*15 в 12/97 (12,4%) образцах, когда имелся либо DRB1\*13 или DRB1\*15. Программное обеспечение LiPA-Expert определило эти вызывающие несоответствия аллели следующим образом: DRB1\*0304х\*1309 (все двенадцать образцов).

DRB1\*1309 альтернатива DRB1\*15 при наличии DRB1\*03 является редким аллелем испанского происхождения.

DRB1\*0304 аллель, с которым он упоминается, также редкий и был впервые обнаружен у трёх не состоящих в родстве кавказцев. Этот аллель имеет сходство последовательности с DRB1\*0301, который указывался как первая альтернатива.

#### *Воспроизводимость*

Повторное типирование между разными партиями INNO-LiPA HLA-DRB1 с использованием ДНК, полученной из клинических образцов в ходе исследования, дало результат воспроизводимой реакционной способности зондов в каждом случае.

#### *Точность*

В ходе внешней оценки INNO-LiPA HLA-DRB1 показал полное соответствие эталонным методам.

#### *Статистика образцов*

243 Общее количество попыток амплификации (без сбоев)

211 Общее количество однозначных результатов на уровне аллельной группы (32 несоответствий)

203/243 Количество образцов, сравниваемых с ключом INNO-LiPA DRB (используется для измерения соответствия)

40/243 Количеств протестированных с помощью PCR-SSP образцов (также используется для измерения соответствия).

#### ***Проведение испытания с использованием ДНК, полученной с помощью первичного раствора DRB1 в сочетании с протоколом ПЦР I (A; B; BW4; C; DRB1; DRB1\*03,11,13,14)***

Для того, чтобы оценить эквивалентность между протоколами ПЦР I и II, 42 образца были испытаны организацией-производителем с использованием обоих методов. Продукты ПЦР для обоих протоколов дали идентичные результаты типирования для всех образцов.

#### ***Проведение испытания с использованием ДНК, полученной с помощью первичного раствора DRB1\*03,11,13,14 в сочетании с протоколом ПЦР I (A; B; BW4; C; DRB1; DRB1\*03,11,13,14)***

Использование первичного раствора DRB1\*03,11,13,14 в INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus оценивалась организацией-производителем и двумя бельгийскими лабораториями типирования тканей. Всего 89 безымянных образцов было проанализировано (50 образцов в других организациях; 39 в организации-производителе). Все образцы были ранее типированы INNO-LiPA HLA-DRB1. Среди образцов было 14 неоднозначных (шесть различных несоответствий) и 75 однозначных. Все неоднозначные образцы были позднее типированы до уникального результата с одной или более альтернативами анализа типирования на основе ДНК.

Гибридизации была проведена с использованием инструмента Auto-LiPA и программы HLA56v3, интерпретация производилась с клинической пробной версией LiRAS для интерпретационного программного обеспечения LiPA HLA v3.00.

#### *Чувствительность анализа*

Чувствительность анализа на уровне аллельной группы рассчитывали как количество успешных результатов типирования от общего числа испытанных образцов. Следовательно, чувствительность типирования в этой оценке составила 100% (89/89; 95% ДИ [95,9%; 100%]).

#### *Реакционная способность зонда*

В двух или более случаях в течение этого исследования некоторые зонды дали слабые реакции. Конкордантное типирование на уровне группы аллелей было достигнуто при использовании интерпретационного программного обеспечения LiRAS.

#### *Разрешение (таблица типирования v5.8 / 021112)*

Первичный раствор DRB1 в сочетании с полосками INNO-LiPA HLA-DRB1 предназначен для типирования HLA-DRB1 аллелей на уровне аллельной группы.

Первичный раствор DRB1\*03,11,13,14 используется в сочетании с полосками INNO-LiPA HLA-DRB1 и предназначен для решения наиболее частых несоответствий, то есть несоответствий с участием DRB1\*03, 11, 13, и/или 14 аллелей.

Все несоответствия на уровне группы аллелей, наблюдаемые после тестирования с первичным раствором DRB1, были сведены к однозначному результату типирования с помощью первичного раствора DRB1\*03,11,13,14: DRB1\*01, DRB1\*13 или DRB1\*01, DRB1\*14 (3 случая); DRB1\*04, DRB1\*13 или DRB1\*04, DRB1\*14 (6 случаев); DRB1\*08, DRB1\*11 или DRB1\*11, DRB1\*13 (1 случай); DRB1\*11, DRB1\*12 или DRB1\*12, DRB1\*13 (2 случая).

Для всех неоднозначных результатов интерпретационное программное обеспечение LiRAS рекомендовало амплификацию DRB1\*03,11,13,14 с последующей гибридизацией с помощью полосок INNO-LiPA HLA-DRB1.

#### *Прецизионность*

Повторяемость (внутри анализа), а также вариативность между анализами и между людьми оценивалась организацией-производителем. Один образец, амплифицированный в двух параллельных анализах с использованием трёх различных циклеров в ходе трёх серий опытов для каждого циклера, тестировался с помощью инструмента Auto-LiPA.

Данные условия выполнялись в двух параллельных анализах тремя разными людьми.

Значительной вариативности обнаружено не было, и одинаковый результат типирования был получен во всех случаях без необходимости внесения изменений.

#### *Точность*

Расчеты точности диагностики были проведены только на тех образцах, для которых уникальный идентификационный результат был доступен. Как следствие, два образца были исключены из этого расчета.

Уникальный HLA-DRB1 результат, набрав было получено для остальных 87 образцов.

Диагностическая точность теста на уровне аллельной группы рассчитывалась как количество правильно полученных результатов типирования по сравнению с уникальным результатом типирования, полученным с INNO-LiPA HLA-DRB1 (Fujirebio Europe NV)

или альтернативным анализом типирования (Olerup SSP (GenoVision) или Allset + DR Низкое разрешение (Dynal)).

Результаты типирования всех 87 образцов соответствовали эталонному анализу, в результате чего диагностическая точность составила 100% (87/87; 95% ДИ [95,9%; 100%]).

### **Торговые знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.
- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.

(Логотип)

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FRI60906**  
80703 INNO-LiPA HLA DQA1  
28799 v0  
2014-01-14  
стр. 1/16  
Английский

## INNO-LiPA HLA DQA1



Производитель:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Технолоджипарк, 6  
9052 ГЕНТ  
Бельгия  
Тел.: +32 9 329 13 29  
БТВ Бельгия 0427.550.660  
РПР Гент

Дистрибьюторы:

Компания «Fujirebio Europe N.V.» (Фуджиребио  
Европа Н.В.)  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
Customer.support@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Germany GmbH» (Фуджиребио  
Германия ГмбХ)  
Тел. +49 511 857 39 31  
факс +49 511 857 39 21  
germany@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio France SARL» (Фуджиребио  
Франция САРЛ)  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Italia S.r.l.» (Фуджиребио Италия  
С.р.л.)  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +32 06 965 28 765  
Italy@fujirebio-europe.com

Компания «Fujirebio Iberia S.L.» (Фуджиребио Иберия  
С.Л.)  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс+34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com



[www.e-labeling.eu/FRI13992](http://www.e-labeling.eu/FRI13992)

### Европа +800 135 79 135

ГР 00800 161 220 577 99  
ИС 800 8996  
ЛТ 880 030 728  
РУ 0800 895 084  
СК 0800 606 287  
ТР 0800 142 064 866  
ЛИ +31 20 796 5692  
МТ +31 20 796 5693  
ИИ 0800 0100567

### Не-Европа +31 20 794 7071

США +1 855 236 0910  
КА +1 855 805 8539  
АР,БР,КО,УР, АВ, НЗ, РФ +800 135 79 135

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

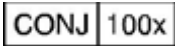
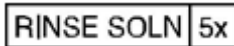
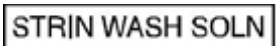
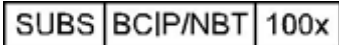
| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| Используемые обозначения.....                                                   | 3  |
| Предусмотренное применение .....                                                | 3  |
| Принцип проведения испытания.....                                               | 3  |
| Реагенты .....                                                                  | 4  |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения .....     | 4  |
| Не предоставляемые необходимые материалы: .....                                 | 6  |
| Безопасность и окружающая среда .....                                           | 7  |
| Образцы.....                                                                    | 8  |
| Процедура работы.....                                                           | 8  |
| Работа с полосками .....                                                        | 8  |
| Указания по ручной инкубации .....                                              | 9  |
| Указания по ручной замене жидкостей в лунках.....                               | 10 |
| Замечания и меры предосторожности.....                                          | 10 |
| Процедура анализа ручным методом.....                                           | 10 |
| Денатурация и гибридизация.....                                                 | 11 |
| Жёсткая промывка.....                                                           | 12 |
| Проявление цвета .....                                                          | 12 |
| Процедура автоматического анализа: <i>Auto-LiPA</i> и <i>Auto-LiPA 48</i> ..... | 13 |
| Результаты.....                                                                 | 13 |
| Считывание.....                                                                 | 13 |
| Подтверждение.....                                                              | 13 |
| Интерпретация результатов .....                                                 | 14 |
| Интерпретационное программное обеспечение: <i>LiRAS</i> .....                   | 14 |
| Ограничения процедуры:.....                                                     | 14 |
| Проведение анализа .....                                                        | 14 |
| Чувствительность метода.....                                                    | 15 |
| Точность .....                                                                  | 15 |
| Разрешение (таблица типирования v.1.0/20031010) .....                           | 15 |
| Реакционная способность зонда .....                                             | 15 |
| Прецизионность.....                                                             | 15 |
| Торговые знаки .....                                                            | 16 |

**Используемые обозначения**

|                                                                                     |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|    | Производитель                                                           |
|    | Изделие для медицинской диагностики в лабораторных условиях (in vitro)  |
|    | Код партии                                                              |
|    | Номер по каталогу                                                       |
|    | Срок годности                                                           |
|    | Следуйте рекомендациям по применению                                    |
|    | Диапазон температур                                                     |
|    | Содержание, достаточное для <n> испытаний                               |
|    | Конъюгат 100x                                                           |
|   | Конъюгат разбавитель                                                    |
|  | Раствор для денатурирования                                             |
|  | Раствор для гибридизации                                                |
|  | Раствор для промывания 5x                                               |
|  | Раствор для жёсткой промывки                                            |
|  | Полоски                                                                 |
|  | Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x |
|  | Субстратный буфер                                                       |
|  | Опасность                                                               |
|  | Предупреждение                                                          |
|  | Анализ олигонуклеотидными зондами                                       |

**Предусмотренное применение**

Набор реагентов INNO-LiPA HLA-DQA1 – это анализ олигонуклеотидными зондами для проведения in vitro (в лабораторных условиях), разработанный для молекулярного типирования аллелей человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) аллелей DQA1.

**Принцип проведения испытания**

Анализы типирования INNO-LiPA HLA основаны на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный ДНК материал химическим способом денатурируется, и отделённые нити гибридизируются специальными олигонуклеотидными зондами, зафиксированными в неподвижном состоянии в виде

параллельных линий на индикаторных полосах, закрепленных на мембране. За этим следует этап жёсткой промывки для того, чтобы удалить любой несоответствующий амплифицированный материал. После жёсткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом. Инкубация с помощью субстратного раствора, содержащего хромоген, приводит к образованию осадка пурпурного/коричневого цвета. Реакция прекращается с помощью этапа промывки, и конфигурация реакционной способности зондов записывается.

Вместе с набором INNO-LiPA HLA-DQA1 для стандартного приготовления биотинилированного амплифицированного материала доступен набор для амплификации (INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex). Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR).

Продукты амплификации затем гибридизируются при помощи 1 типизирующей полосы, на которой находятся 35 последовательно-специфических зондов и 3 контрольных линии (Рисунок 1).

### **INNO-LiPA HLA-DQA1: шаги**

Шаг 1 Амплификация экзонов 1, 2 и 3 локуса HLA-DQA1.

Шаг 2 Гибридизация и жесткая промывка 35 зондами, закрепленными на одной полосе INNO-LiPA HLA-DQA1 (56°C).

Шаг 3 Проявление цвета.

Шаг 4 Интерпретация рисунка реактивности зонда.

INNO-LiPA HLA-DQA1 разработан с целью дать лучшее разрешение, используя метод обратной гибридизации на аллельном уровне (это отображается в четырёх первых символах после звёздочки в названии аллеля согласно стандартной классификации антигенов лейкоцита человека (HLA), напр. HLA-DQA1\*0101).

### **Реагенты**

#### ***Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения***

- Все вскрытые и невскрытые и хранящиеся в исходных пробирках при температуре 2-8°C реагенты для анализа остаются стабильными до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты с истёкшим сроком годности.
- Все реагенты и пластиковые пробирки с индикаторными полосками необходимо оставить при комнатной температуре (20-25°C) примерно за 60 минут до начала использования и вернуть в холодильник немедленно после использования.
- Изменения внешнего вида составных частей набора могут свидетельствовать о нестабильности и ухудшении качества.
- Набор необходимо хранить вдали от любого источника заражённого ДНК, особенно амплифицированных ДНК продуктов.
- Чтобы уменьшить вероятность скручивания полосок до начала использования, рекомендуется хранить пробирки в горизонтальном положении.

Предоставляемые реагенты:

| <b><u>Компонент</u></b> | <b><u>Количество</u></b> | <b><u>Номер</u></b> | <b><u>Описание</u></b>                                            |
|-------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Полоски                 | 1 x 20                   | 58329               | Содержит 20 полосок для INNO-LiPA HLA-DQA1 Plus с зелёной полосой |

|                                                                         |            |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Раствор для денатурации                                                 | 1 x 1 мл   | 56718 | отметки.<br>Щелочной раствор с содержанием этилендиамина тетрауксусной кислоты. Пробирка должна быть закрыта немедленно после использования; длительное воздействие воздуха на раствор приводит к быстрому уменьшению степени денатурации.                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Раствор для гибридизации                                                | 1 x 80 мл  | 56719 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА (SSPE), содержащий 0.5% додецилсульфата натрия (SDS). Раствор для гибридизации необходимо подогреть до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Раствор для жёсткой промывки                                            | 1 x 200 мл | 56720 | Буферный раствор фосфата натрия ЭДТА, содержащий 0.1% додецилсульфат натрия. Раствор для жёсткой промывки необходимо довести до температуры не менее 37°C и не более 56°C (все кристаллы должны раствориться до начала использования).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Конъюгат разбавитель                                                    | 1 x 80 мл  | 56951 | Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола, белкового стабилизатора, и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                                           | 1 x 0,8 мл | 60685 | Стрептавидин с этикеткой щелочной фосфатазы в буфере, содержащем белковые стабилизаторы и консерванты, до начала использования нужно растворить в 1/100 конъюгате разбавителе. Для ручного тестирования приготовьте 2 мл рабочего сопряжённого раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх. (Субстратный рабочий раствор можно готовить во время инкубации конъюгата). Для Auto-LiPA приготовьте на 10 мл больше. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 °C) при условии хранения в тёмном месте. |
| Субстратный буфер                                                       | 1 x 180мл  | 56953 | Трис-буфер с содержанием NaCl, MgCl <sub>2</sub> и 0.01% MIT/<0.1% САА в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100x | 1 x 0,8 мл | 56954 | Соль 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат п-толуидина (BCIP) и нитросиний тетразолий (NBT) в диметилформамиде (DMF), до начала использования необходимо растворить 1/100 в субстратном буфере. Приготовьте 2 мл субстратного рабочего раствора для каждой тестовой лунки + 2 мл сверх                                                                                                                                                                                                                                                                       |



|                           |           |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------------------|-----------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Раствор для промывания 5х | 1 x 80 мл | 56721 | (субстратный рабочий раствор можно приготовить в процессе инкубации конъюгата) для ручного тестирования. Для Auto-LiPA, приготовьте больше на 10 мл. Субстратный рабочий раствор стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25°C) при условии хранения в тёмном месте. Фосфатный буфер с содержанием NaCl, тринитротолуола и 0.05% МПТ/0.48% САА в качестве консерванта, до начала использования необходимо развести 1/5 (1 часть + 4 части) в дистиллированной или деионизованной воде. Приготовьте 8 мл рабочего раствора для промывки для каждой тестовой лунки + 10мл сверх. Для Auto-LiPA приготовьте 12 мл рабочего раствора для промывки на каждую тестовую лунку + 20мл сверх. Рабочий раствор для промывки стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C. Каждый содержит по 8 лунок. |
| Планшет для инкубации     | 3         |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Считывающая карта         | 1         |       | Для идентификации положительных зондов.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Листок учёта данных       | 2         |       | Для хранения отработанных полосок.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

#### Не предоставляемые необходимые материалы:

- INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex.
- Водяная баня с качающейся платформой (80 об/мин; с наклонной крышечкой; температура устанавливается в 56 °C +/- 0,5 °C).
- Аппарат для аспирации.
- Калиброванный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный и колебательный шейкер с платформой.

#### Рекомендации

##### *Для орбитального шейкера:*

- диаметр кругового движения должен быть равен или больше 13 мм.
- рекомендуемая скорость для круговых движений диаметром 13 мм – 160 об/мин.

##### *Для возвратно-поступательного шейкера:*

- рекомендуемая скорость для колебательных движений – 80 движений в минуту.

##### *Для колебательного шейкера с платформой:*

- во избежание проливания жидкости величина угла колебаний не должна превышать 13.
- рекомендуемая скорость – 50 об/мин.
- Вортекс-миксер или аналогичное устройство.
- Мерные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дистиллированная или деионизованная вода.

- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипетки (желательно с хлопковой пробкой).
- Пинцет для работы с полосками.
- Пипетка переменной ёмкости для 1 – 20 мкл, 20 – 200 мкл, и 200 – 1000 мкл.
- Дозирующая мультипипетка (Eppendorf, необязательно).
- Таймер, 2 часа ( $\pm 1$  минута).

### Безопасность и окружающая среда

Для получения информации о потенциально опасных компонентах, пожалуйста, ознакомьтесь с Паспортом безопасности вещества (SDS) и маркировкой изделий. Самая последняя версия SDS доступна на сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).



**Опасность:** DENAT SOLN (раствор для денатурации)  
H314 P260 P280 P303+P361+P353 P305+P351+P338 P310 P363



**Предупреждение:** содержит 2-хлорацетамид (раствор для промывания 5х)  
H317 P261 P280 P333+P313 P302+P352 P363



**Опасность:** N,N-Диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксифенил-4,4'-илен)дитетразолий дихлорид: Субстратный 5-бромо-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х  
H312 H319 H332 H360D  
P201 P261 P280 P281 P305+P351+P338 P308+P313

#### Краткая характеристика опасностей

|       |                                                    |
|-------|----------------------------------------------------|
| H312  | Опасен при соприкосновении с кожей.                |
| H314  | Вызывает сильные ожоги на коже и повреждение глаз. |
| H317  | Может вызвать на коже аллергическую реакцию.       |
| H319  | Вызывает сильное раздражение глаз.                 |
| H332  | Опасен при вдыхании.                               |
| H360D | Может навредить будущему ребёнку                   |

#### Меры предосторожности

|                |                                                                                                                                                                         |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P201           | Перед использованием ознакомьтесь с инструкцией.                                                                                                                        |
| P260           | Не вдыхайте аэрозоли/пары/спреи.                                                                                                                                        |
| P261           | Избегайте вдыхания аэрозолей/паров/спреев.                                                                                                                              |
| P280           | Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз/защиту для лица.                                                                                            |
| P281           | Используйте средства личной защиты согласно требованиям.                                                                                                                |
| P303+P361+P353 | ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снимите всю загрязнённую одежду. Сполосните кожу водой в душе.                                                           |
| P305+P351+P338 | ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: С осторожностью промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они имеются и это легко сделать. Продолжить промывание. |
| P308+P313      | Если подверглись воздействию: обратитесь за медицинской                                                                                                                 |

- помощью.
- P310 Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.
- P333+P313 При появлении сыпи или раздражения на коже: обратитесь за медицинской помощью.
- P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.
- P363 Перед повторным использованием постирайте загрязнённую одежду.
- С образцами следует обращаться как с потенциально заразными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы должны считаться потенциально заразными и с ними следует обращаться соответственно. Только прошедший соответствующую подготовку персонал может быть допущен к проведению процедуры анализа. Все компоненты крови и биологические материалы должны быть расположены в соответствии с принятой техникой безопасности.
- Протестировать как минимум за 15 минут при температуре 121°C.
  - Сжечь материал, предназначенный для одноразового использования.
  - Смешать жидкие отходы с гипохлоритом натрия в таких пропорциях, чтобы конечная концентрация составила  $\pm 1\%$  гипохлорита натрия. Перед уничтожением дать постоять ночь.
- ВНИМАНИЕ: перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоты.
- Необходимо использовать средства личной защиты: перчатки и защитные очки при работе с опасными возбудителями инфекции.
- С отходами следует обращаться согласно рекомендациям по уничтожению отходов, принятым в организации. Также необходимо следовать федеральному, государственному и местному природоохранному законодательству.

## Образцы

Так как анализ INNO-LiPA HLA-DQA1 использует биотинилированный амплифицированный ДНК материал, в качестве дополнительного инструмента предоставляется набор для амплификации INNO-LiPA DQA1 Multiplex.

## Процедура работы

### *Работа с полосками*

- Полоски предназначены лишь для однократного использования!
- Не дотрагивайтесь до полосок голыми руками; используйте чистый пинцет.
- Используйте карандаш для отметок на индикаторных полосках. Не используйте шариковые ручки и пр. Пишите ID выше линии отметки на полосках.
- Во время разных инкубационных стадий индикаторные полоски всегда должны находиться в одной и той же лунке.
- Неиспользованные и отработанные полоски должны храниться вдали от очень яркого света и высоких температур.
- До интерпретации, покрытия и хранения дайте отработанным полоскам полностью высохнуть.

- Отработанные полоски по возможности должны храниться в тёмном месте при температуре 20-25°C.
- Не используйте повторно лунки.

#### **Указания по ручной инкубации**

- Инкубация при  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  в процессе гибридизации и жёсткой промывки является самым важным этапом во избежание ложно-положительных (слишком низкая температура) или ложно-негативных/очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня с качающейся платформой и с наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать температурные перепады. Необходим строгий температурный контроль с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани во время инкубации, чтобы избежать ложно-положительных сигналов.
- **Не используйте шейкер с горячим воздухом** для гибридизации и жёсткой промывки.
- Для гибридизации и жёсткой промывки лунки должны быть расположены на качающейся платформе водяной бани. Регулируйте уровень воды между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Убедитесь, что лунки не держатся на поверхности воды. Между водой и лунками должен быть прямой контакт.
- Этапы инкубации для окрашивания должны проходить при температуре между 20 и 25°C. Если температура ниже 20°C, это может привести к получению более слабых результатов. Если температура выше 25°C, это может привести к получению сильного фона и/или ложно-положительных сигналов.
- Длительность процесса инкубации всегда должна соответствовать указанной в протоколе.
- Амплитуда движений водяной бани с качающейся платформой (гибридизация и процесс жёсткой промывки) и шейкера (процедура образования цвета) очень важна для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полоски должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть максимально возможной. **Тем не менее, следует не допускать проливания жидкостей за пределами лунок!** Это может привести к перекрёстному заражению и неточным результатам.
- Покачивание в процессе инкубации полосок должно происходить таким образом, чтобы и жидкость, и индикаторные полоски двигались взад и вперёд таким образом, чтобы жидкость не вылилась за пределы лунок.
- Не накрывайте планшет. В процессе гибридизации и жёсткой промывки инкубации лунки можно оставить в водяной бане не покрытыми. Покрытие лунок приспособлением для заклеивания планшетов может привести к перекрёстному загрязнению.

**Указания по ручной замене жидкостей в лунках**

- Жидкость высасывается из лунки с помощью пипетки, желательно присоединённой к вакуумному аспиратору. Планшет находится под таким углом, который позволил бы всей жидкости перетечь в один конец лунки.
- Добавьте 2 мл соответствующего раствора в каждую лунку и следуйте указаниям протокола. Для этих целей можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).
- Повторяйте этот этап столько раз, сколько указано в процедуре проведения анализа.

**Заметка:**

- Не допускайте высыхания полосок в перерыве между двумя этапами.
- Не допускайте повреждения поверхности полосок в процессе аспирации. Удаляйте жидкость с поверхности полоски выше линии отметки.
- Убедитесь в том, что вся жидкость удалена.
- Убедитесь в том, что вся полоска тщательно промыта в результате её полного погружения в раствор.
- При необходимости регулируйте скорость шейкера.

**Замечания и меры предосторожности**

- Только для использования в лабораторных условиях (in vitro).
- Только для профессионального использования.
- Для того, чтобы избежать заражения ДНК, рекомендуется поддерживать максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: минимальными предосторожностями для качественной лабораторной практики является обеспечение отдельных зон, отдельных пипеток и прочего лабораторного материала, отдельных лабораторных халатов и перчаток (и их запасов).
- Избегать любого возврата из зоны после амплификации в зону до амплификации.
- Рекомендуется использовать стерилизованный одноразовый лабораторный материал.
- Не используйте повторно лабораторный материал, предназначенный для одноразового использования.
- Используйте новую стерильную насадку на пипетку для каждого образца аликвоты.
- Смешивать реагенты между наборами можно только в том случае, если у них одинаковые номера партии.
- Избегайте бактериального заражения реагентов.

**Процедура анализа ручным методом****Заметка:**

- В течение разных этапов инкубации индикаторные полоски должны всегда оставаться в одних и тех же лунках.

**До начала процесса инкубации с помощью калибровочного термометра проверьте температуру водяной бани и при необходимости отрегулируйте температуру до того, как поместите планшет в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

**Образцы**

1. Амплифицированный HLA-DQA1 продукт (используйте 10 мкл). Для приготовления образца: ознакомьтесь с инструкциями к использованию INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex.

Примечание:

- Убедитесь, что добавили именно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком большое или слишком маленькое количество образца может привести к неправильным результатам типирования.
2. Пустой контрольный амплифицированный образец (негативный контроль; используйте 10 мкл).

**Денатурация и гибридизация**

1. Нагрейте водяную баню с качающейся платформой до  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с использованием калиброванного термометра и отрегулируйте её при необходимости. Не превышайте указанную температуру. Предварительно нагрейте раствор для гибридизации и раствор для жёсткой промывки на водяной бане при температуре не меньше  $37^{\circ}\text{C}$  и не больше  $56^{\circ}\text{C}$ . Перед применением смешайте. Все кристаллы должны раствориться.
2. С помощью пинцета возьмите необходимое количество Полосок INNO-LiPA HLA-DQA1 из колбы (по одной полоске для тестового образца). Внесите полоску в пустой контрольный амплифицированный образец. Напишите идентификационный номер выше зелёной линии отметки на полоске.
3. Возьмите необходимое количество тестовых лунок (по одной лунке на полоску) и разместите их на планшете.
4. С помощью пипетки добавьте 10 мкл раствора для денатурации в верхний угол каждой лунки.

Примечание:

- Закройте пробирку немедленно после использования.
5. Добавьте 10 мкл образца (см. Образцы, см. Инструкцию по использованию INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex) и осторожно смешайте, перемещая пипетку вверх и вниз. Всегда используйте стерильные насадки для пипетки. Длительность процесса денатурации должна составлять **5 минут** при температуре  $20-25^{\circ}\text{C}$ .
  6. Потрясите предварительно подогретый раствор для гибридизации и аккуратно добавьте 2 мл в денатурированный амплифицированный продукт в каждой лунке. Осторожно потрясите, чтобы смешать. Будьте осторожны и избегайте заражения соседних лунок во время работы с пипеткой.
  7. Немедленно положите полоску в лунку вверх отмеченной стороной мембраны. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

Примечание:

- Наденьте одноразовые перчатки и используйте пинцет
8. Положите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (80 об/мин; см. Инструкцию к ручной инкубации), закройте крышку и инкубируйте в течение **30 минут**.

Примечание:

- Избегайте выплёскивания воды из водяной бани в лунку. Удерживайте воду на уровне между 1/3 и 1/2 высоты лунки. Чтобы избежать скольжения планшета, закрепите его между двумя тяжёлыми предметами.

### ***Жёсткая промывка***

1. После гибридизации, достаньте планшет из водяной бани.
2. Держите планшет под малым углом и удалите жидкость из лунки с помощью пипетки, желательной присоединённой к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение **3 минут**.
3. После инкубации достаньте планшет из водяной бани и удалите жидкость из лунок.
4. Повторите **3-й минутный** этап инкубации и один раз этап аспирации.
5. В конце добавьте 2 мл предварительно разогретого раствора для жёсткой промывки в каждую лунку, поместите планшет в водяную баню с качающейся платформой при температуре  $56^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , закройте крышку и инкубируйте в течение **4 минут**.

Примечание:

В процессе жёсткой промывки разбавьте концентрированный раствор для промывания 5х и конъюгат 100х. См. Реагенты.

- Данные условия жёсткой промывки являются одинаковыми для HLA-DQB1 Update, HLA-A Update, HLA-B Update Plus.  
(3 минуты – 3 минуты – 4 минуты)
- Условия жёсткой промывки для HLA-DRB1 Plus, HLA-DRB Dec. HLA-DPB, HLA-C также могут быть использованы для HLA-DQA1. (2х20 секунд – 10 минут).

### ***Проявление цвета***

Последующая инкубация проводится в шейкере при температуре 20-25°C. В процессе инкубации, жидкость и индикаторные полоски должны двигаться вперёд и назад по лунке для однородного окрашивания.

1. Дважды по 1 минуте промойте каждую полоску, используя 2 мл рабочего раствора для промывания (см. Указания по ручной замене жидкости в лунках)
2. Добавьте 2 мл рабочего конъюгатного раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

Примечание:

- Разведите субстратный 5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий 100х за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. Реагенты.
3. Промойте каждую полоску дважды по 1 минуте с использованием 2мл рабочего раствора для промывания и ещё раз с использованием 2мл субстратного буфера.
  4. Добавьте 2 мл субстратного рабочего раствора в каждую лунку и инкубируйте в течение **30 минут**, взбалтывая планшет в шейкере.

ВНИМАНИЕ:

- Используйте одноразовые перчатки и защитные очки.
5. Остановите проявление цвета, дважды промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, взбалтывая планшет в шейкере в течение не менее **3 минут**.

6. С помощью пинцета достаньте полоски из лунок и положите их на абсорбентную бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть до считывания результатов. Храните использованные и сухие полоски в тёмном месте.

### Процедура автоматического анализа: *Auto-LiPA* и *Auto-LiPA 48*

Процедура анализа LiPA прекрасно подходит для автоматизации. Следовательно, *Auto-LiPA* была разработана для полного проведения этапов гибридизации, жёсткой промывки и окрашивания. *Auto-LiPA* характеризуется автоматизированной системой подогрева и охлаждения, а также аспирации и дозирования пипеткой. За более подробной информацией и специфическими условиями использования *Auto-LiPA* и *Auto-LiPA 48*, пожалуйста, обратитесь в компанию «Fujirebio Europe N.V.» или к Вашему местному распространителю.

### Результаты Считывание

Рисунок 1 показывает расположение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DQA1. Линия считается положительной, когда в конце процедуры анализа появляется чёткая пурпурная/коричневая полоса.



Рисунок 1: расположение линии отметки (зелёная линия), контрольная линия конъюгата, 2 контрольные линии HLA-DQA1 и 35 последовательно-специфических ДНК зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DQA1.

### Подтверждение

- Каждый раз при проведении теста применяйте один негативный контроль.  
Как и с любой новой процедурой анализа, применение дополнительных позитивных и негативных контролей нужно рассматривать до того, как достигнута высокая степень уверенности в правильности проведения процедуры анализа. Для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия проведения анализа, предлагается использовать эталонную ДНК.
- Самая верхняя линия на полоске INNO-LiPA HLA-DQA1 является линией отметки (зелёной).  
Эта линия позволяет правильно расположить полоски.
- Следующая линия контролирует добавление химически активных рабочих конъюгатного и субстратного растворов во время процедуры определения. Эта линия всегда должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте. Эта линия всегда должна быть положительной (если нет: нельзя проводить типирование!) и в течение одного исследования должна иметь примерно одинаковую яркость на каждой полоске.



- Следующие 2 линии – контрольные линии внутренней гибридизации HLA-DQA1 (контроль HLA-DQA1 на считывающей карте), обозначающие, достаточное ли количество HLA-DQA1 амплифицированного материала было добавлено для гибридизации. Первая контрольная линия HLA-DQA1 гибридизирует экзон 1 ампликона, а вторая контрольная линия HLA-DQA1 – экзоны 2 и 3 ампликона. Эти линии всегда должны быть положительными, за исключением негативного контроля, но их насыщенность может изменяться от одного образца к другому.
- Результат анализа каждого негативного контроля не должен проявляться ни на каких линиях на полоске кроме контрольной линии конъюгата.
- Яркость цвета зондов на полоске может различаться от одной линии к другой.

### ***Интерпретация результатов***

- Контрольная линия конъюгата на полоске должна совпадать с контрольной линией конъюгата на пластиковой считывающей карте.
- Для того, чтобы подтвердить каждую отдельную полоску (см. Подтверждение) сначала проверьте положительность контрольных линий (первые три линии: контрольная линия конъюгата, 1-ая контрольная линия HLA-DQA1, 2-ая контрольная линия HLA-DQA1).
- Результаты типирования основываются на реакционной способности зондов в наборе. Имеется список характеристик зондов.
- Определите номера всех положительных зондов на полосках INNO-LiPA HLA-DQA1 и определите тип HLA-DQA1 путём ввода данных в версию интерпретационного программного обеспечения LiPA (см. Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS).

### **Интерпретационное программное обеспечение: LiRAS**

- Программное обеспечение LiRAS для INNO-LiPA HLA создано помочь в интерпретации результатов LiPA.

### **Ограничения процедуры:**

- Данный продукт должен использоваться исключительно персоналом, владеющим техникой гибридизации.
- Только качественная работа в лаборатории и осторожное выполнение определённых процедур позволят провести гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание, что новые аллели могут обладать полиморфизмами за пределами области зондов.
- «Типирование невозможно» (программное обеспечение LiRAS): может появиться из-за новых аллелей, которые обладают полиморфизмами в области зондов.

### **Проведение анализа**

Проведение анализа с помощью INNO-LiPA HLA-DQA1 оценивалось организацией-производителем и одной лабораторией типирования тканей в Соединённом Королевстве. Всего было проанализировано 79 безымянных образцов (50 в другой организации; 29 в организации-производителе) (анализировались образцы из центра Международного

обмена антигенов лейкоцита человека (HLA) и ДНК (образцы Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе)).

Гибридизация проводилась с помощью инструментов *Auto-LiPA* и программы HLA56v3. Полоски считывались визуально и интерпретация проводилась с помощью клинической испытательной версии LiRAS для интерпретационного программного обеспечения LiPA HLA v3.02.

### ***Чувствительность метода***

Чувствительность (показатель эффективности) метода рассчитывалась как отношение интерпретируемых результатов (=доступные результаты успешной амплификации и типирования, полученные с внесением корректировок или без него), полученных для полоски INNO-LiPA HLA-DQA1, к общему количеству анализируемых образцов.

Чувствительность метода в данном случае оценивается в 100% (79/79; 95% CI [95,44%; 100%]), хотя повторное тестирование потребовалось для одного образца, т.к. изначально был получен результат «типирование невозможно».

### ***Точность***

Точность анализа на аллельном уровне рассчитывалась, как процентное соотношение полученных с использованием INNO-LiPA HLA-DQA1 результатов, которые были идентичны результатам, полученным с помощью альтернативных методов идентификации ДНК (сиквенспецифическими праймерами (SSP) и основанное на секвенировании (SBT)), к общему количеству образцов с интерпретируемым LiPA результатом, полученным с внесением корректировок или без него.

Точность в данном случае составила 93,67% (74/79; 95% CI [85,84%; 97,91%]) после первоначального анализа, и 100% (79/79; 95% CI [95,44%; 100%]) после анализа несоответствий пяти образцов. В ходе первоначального анализа, INNO-LiPA HLA-DQA1 идентифицировал аллель DQA1\*0505 в четырёх образцах и аллель DQA1\*0502 в другом образце, в то время как альтернативный метод идентификации идентифицировал аллели DQA1\*0501 и DQA1\*0505 соответственно. Все пять образцов были впоследствии секвенированы организацией-производителем, и результаты подтвердили полученные с помощью INNO-LiPA HLA-DQA1.

### ***Разрешение (таблица типирования v.1.0/20031010)***

Наблюдаемое разрешение на аллельном уровне в ходе данного исследования составило 100%.

### ***Реакционная способность зонда***

В ходе визуального наблюдения за данным исследованием один зонд дал слабую ложноположительную реакцию в двух случаях. Тем не менее, с использованием интерпретационного программного обеспечения LiRAS было произведено конкордантное типирование на аллельном уровне.

### ***Прецизионность***

Организация-производитель в трёх параллельных испытаниях с участием трёх разных людей анализировала 5 образцов ручным методом анализа. Серия из шести ручных и шести *Auto-LiPA* опытов была проведена для двадцати трёх образцов. Реакционная

способность зонда была аналогичной во всех сочетаниях. Интерпретация результатов была одинаковой во всех случаях.

Панель, содержащая четыре образца с известной реакционной способностью и интерпретацией, анализировалась организацией-производителем и другими организациями.

Во всех случаях был получен одинаковый результат типирования.

### **Торговые знаки**

INNO-LiPA является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. зарегистрирован в США и других странах.

- LiRAS является торговым знаком Фуджиребио Европа Н.В. (Ранее известный как Инногенетик Н.В.), зарегистрированный в США.

## INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex



### Производство:

Fujirebio Europe N.V. Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

### Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

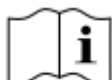
Fujirebio Italia S.r.l.  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Для получения информации на других языках посетите сайт:



[www.e-labeling.eu/FRI88836](http://www.e-labeling.eu/FRI88836)

### +800 135 79 135

00800 161 2205 7799  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5692  
0800 0100 567

### +31 20 794 7071

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

### ЕВРОПА

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

Необъединенная Европа  
США +1 855 236 0910  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая  
Зеландия, Россия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

© Fujirebio Europe N.V.

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                                                             |                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Используемые символы .....                                                                                  | 2                               |
| Предполагаемое использование .....                                                                          | 2                               |
| Принцип проведения теста .....                                                                              | Ошибка! Закладка не определена. |
| Реагенты .....                                                                                              | Ошибка! Закладка не определена. |
| <i>Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения</i> Ошибка! Закладка не определена |                                 |
| Материалы, которые требуются, но не предоставляются .....                                                   | 3                               |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды.....                                                 | 4                               |
| Сбор, подготовка и хранение .....                                                                           | 4                               |
| <i>Выделение ДНК</i> .....                                                                                  | 4                               |
| <i>Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)</i> .....                                         | 4                               |
| <i>Цикличность ПЦР</i> .....                                                                                | 4                               |
| Примечания и меры предосторожности .....                                                                    | 4                               |
| Процедура тестирования .....                                                                                | 5                               |
| Результаты .....                                                                                            | 6                               |
| <i>Визуализация</i> .....                                                                                   | 6                               |
| <i>Проверка достоверности</i> .....                                                                         | 6                               |
| Ограничения процедуры .....                                                                                 | 6                               |
| Выполнение теста .....                                                                                      | 7                               |
| <i>Диапазон применения</i> .....                                                                            | 7                               |
| <i>Точность</i> .....                                                                                       | 7                               |
| Товарные знаки .....                                                                                        | 7                               |

**Используемые символы**

Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



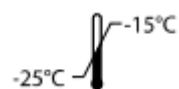
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



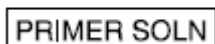
Набор для амплификации



Буферный раствор для амплификации



LiPA-Taq



Раствор праймера

**Предполагаемое использование**

Набор "INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex", для использования в лабораторных условиях, предназначен для амплификации нуклеиновой кислоты с первого и (второго+ третьего) экзона лейкоцитарного антигена человека (HLA) locus DQA1. Реакцию проводят с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мультиплексном формате.

## Принцип проведения теста

Образец ДНК, предназначенный для амплификации с помощью ПЦР, помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTP), биотинилированные праймеры, а также термостабильную ДНК-полимеразу. Праймеры амплифицируют целевую последовательность ДНК, указанную в "Предполагаемом использовании".

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, чтобы подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. После охлаждения до заданной температуры праймеры будут связываться со своим целевым участком (отжиг). При другой заданной температуре термостабильная ДНК-полимераза будет использовать избыточные dNTPs, чтобы достроить отождествленные праймеры вдоль целевой матрицы

(достройка). Таким образом, две точные биотинилированные копии целевой последовательности воспроизводятся после одного цикла. После многочисленных циклов образуется огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Реагенты следует хранить отдельно от любого источника загрязнения ДНК, особенно амплифицированных ДНК-продуктов.
- Обращаться с реагентами, используемыми для процессов амплификации, следует в помещении, не содержащем амплифицированную ДНК. Следует использовать стерилизованные в автоклаве пробирки и наконечники дозатора (предпочтительно закрытые ватной пробкой).
- При поддержании температуры в диапазоне от -25 до -15°C и хранении в оригинальных флаконах, реагенты обладают стабильностью до даты истечения срока годности набора. Тем не менее, рекомендуется распределить аликвотами реагенты (за исключением LiPA-Taq) после первого применения и затем хранить их при температуре от -25 до -15°C., (допускается 4 цикла замораживания / оттаивания).
- Не используйте реагенты после истечения срока годности набора.
- Изменения внешнего вида реагентов, входящих в набор, может указывать на нестабильность или ухудшение их свойств.

Поставляемые реагенты:

| <b>Компонент</b>                  | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------|---------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Буферный раствор для амплификации | 1 x 0,3 мл    | 56982        | Содержит все дезоксинуклеозид 5'-трифосфаты (dNTPs) и 0,05% Na <sub>3</sub> N в качестве консерванта. Дождитесь полного оттаивания перед использованием.                                                                                                 |
| Раствор праймера                  | 1 x 0,3 мл    | 58332        | Содержит биотинилированные праймеры, MgCl <sub>2</sub> , Трис-буфер и 0,05% Na <sub>3</sub> N в качестве консерванта. Перед использованием дайте полностью растаять, чтобы MgCl <sub>2</sub> полностью растворился, и доведите до температуры 20 - 25°C. |
| LiPA-Taq                          | 2x 0.035 мл   | 700093       | Содержит Hot Start ДНК-полимеразу Taq (2 ед./мкл) в буфере хранения. Храните при температуре от -25 до -15°C непосредственно перед использованием                                                                                                        |

### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- Материалы для выделения ДНК.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов (желательно закрытые ватной пробкой).
- Стерильные микропробирки.
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.

**Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к **Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).**
- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- Буфер для амплификации и раствор праймера содержат азид натрия в качестве консерванта. Чтобы предотвратить образование очень токсичного газа, избегайте контакта азидов натрия с кислотами. Чтобы предотвратить образование взрывоопасного азидов свинца или меди в водопроводной воде, после удаления растворов, содержащих азид натрия, тщательно промойте канализацию водой.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

**Сбор образцов, подготовка и хранение**

Примечание: Реагенты не поставляются.

**Выделение ДНК**

Можно применять широко используемые методы выделения ДНК высаливанием или методы, основанные на центрифужных колонках, для того, чтобы подготовить геномную ДНК, начиная с образцов цельной крови, антикоагулированных с помощью раствора, включающего кислоту, цитрат и декстрозу (ACD), и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

Образцы ДНК следует хранить при температуре от -15 до -25°C.

**Выделенная ДНК должна иметь концентрацию  $\geq 0.02 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ .  
Чистота ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) должна составлять  $\geq 1.5$ .**

**Подготовка смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР)**

Каждый компонент должен добавляться и поставляться в надлежащем количестве. Слишком большой или слишком маленький объем образца или реагентов может привести к неспецифической амплификации или даже к полному отсутствию амплификации.

**Цикличность ПЦР**

Следует выбирать правильный температурный профиль для «INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex».

**Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты должны быть изолированы от любого источника загрязняющей ДНК, особенно от продуктов амплифицированной ДНК. Избегайте микробного загрязнения реагентов.
- Избегать любого возвращения из пост-амплификационной зоны в пре-амплификационную зону.
- Все наконечники дозатора и пробирки, используемые для процесса амплификации, должны быть простерилизованы в автоклаве. Рекомендуется использовать наконечники дозатора с ватными пробками. Используйте новый стерильный наконечник дозатора для каждого поделённого на аликвоты образца.
- Не смешивать реагенты из разных наборов, если только компоненты не имеют идентичных номеров партий.
- После оттаивания, перемешать на вортексе Раствор для амплификации и Раствор праймера и осадить путём центрифугирования все реагенты, особенно LiPA Taq.

**Процедура тестирования****ПРИМЕЧАНИЕ:**

-Данный протокол по амплификации экзона 1 и экзона (2+3) гена HLA-DQA1 был разработан с целью выполнения оптимальной амплификации, используя пробирки для ПЦР MicroAmp (объемом 0.2 мл) и термоциклеры ПЦР-системы 9700 GeneAmp, а также LiPA-Taq. Настоящий протокол можно использовать для большинства термоциклеров коммерческого типа но он может потребовать некоторых изменений, указанных изготовителем термоциклера.

- Перед использованием определить, согласуется ли протокол с термоциклером, используемым в Вашей лаборатории. Следите за тем, чтобы термоциклер был откалиброван перед использованием.

- Примите необходимые меры предосторожности для того, чтобы избежать неспецифической амплификации и образования праймер-димеров, что может ухудшить результаты:

- Выполните пипетирование на льду без задержки.
- Предварительно нагрейте (до  $96^{\circ}\text{C} \pm 0.75^{\circ}\text{C}$ ) нагревательный блок термоциклера перед тем, как поместить в него образцы, после чего немедленно начните процесс выполнения цикла.

1. Разбавить каждую геномную ДНК до концентрации от 0,02 до 1,5 мкг/мкл в буферном растворе TE.

2. Определить количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:

N = количество образцов ДНК + 1 (отрицательный контрольный образец; без ДНК) + 1. При помощи наконечников дозаторов, закрытых ватной пробкой, подготовьте основной раствор в стерилизованной в автоклаве пробирке объемом 1,5 мл:

- (N x 23.5 мкл) Автоклавируемая дистиллированная вода
- + (N x 10 мкл) буферный раствор для амплификации
- + (N x 10 мкл) HLA-DQA1 раствор праймера multiplex
- + (N x 1.5 мкл) LiPA-Taq (N x 3 U)

Общий объем этой смеси для амплификации теперь будет составлять (N x 45 мкл). Быстро перемешать на вортексе и распределить аликвотами 45 мкл этой исходной смеси в стерилизованные в автоклаве пробирки для амплификации (N-1).

3. Отмерьте дозатором 5 мкл (0.1 -7.5 мкл) раствора геномной ДНК.

Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку с отрицательным контрольным образцом.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не перемешивайте на вортексе и не смешивайте.
- Проверьте, чтобы смесь для амплификации находилась на дне пробирки.

4. Поместите образцы в предварительно нагретый и откалиброванный нагревательный блок (см. инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, предназначенную для амплификации INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex .



INNO-LiPA HLA-DQA1 протокол амплификации Multiplex :

| Тип циклера |                     |             |         |                            |
|-------------|---------------------|-------------|---------|----------------------------|
|             |                     | PE-2400     | PE-9600 | PE-9700                    |
| Этап        |                     | Температура |         | Время                      |
| 1           | активация           | 96°C        | 10 мин  |                            |
| 2           | денатурация         | 95°C        | 5 мин   |                            |
| 3           | денатурация         | 95°C        | 20 сек. | 35 раз повторить этапы 3-5 |
| 4           | отжиг праймеров     | 58°C        | 20 сек. |                            |
| 5           | достройка праймеров | 72°C        | 20 сек. |                            |
| 6           | удлинение           | 72°C        | 10 мин  |                            |
| 7           | пауза               | 4°C         |         |                            |

Примечание: Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса II INNO-LiPA HLA кроме INNO-LiPA HLA-DPB

5. По завершении процесса амплификации сразу использовать образцы с индикаторными полосами INNO-LiPA HLA-DQA1 или хранить при температуре от -25 до -15 °C. Примечание: Не хранить амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

## Результаты

### Визуализация

- Присутствие ампликонов можно проверить на 2% агарозном геле. Наполнить каждое гнездо по 10 мкл амплифицированного продукта. Амплификация набора INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex производит два ампликона длиной 265 пар оснований (экзон 1) и 1065 пар оснований (экзон 2+3). Эти ампликоны легко различимы на агарозе.
- Внутренние наблюдения показали, что если после проверки видны обе полосы 10 мкл амплифицированного продукта на 2% агарозном геле, интерпретируемый результат можно получить с помощью анализа зондами LiPA.

## Проверка достоверности

- Включать, по меньшей мере, один отрицательный и один положительный контрольный образец каждый раз при выполнении амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует изучить возможность включения дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры. Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.
- При получении положительной полосы в геле по отрицательному контрольному образцу, всю серию следует выбросить и после этого необходимо повторить полностью всю процедуру.

## Ограничения процедуры

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Ингибирование полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может быть причиной полностью неудавшегося анализа.
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Повторная заморозка/разморозка образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Последовательность на участке связывания праймера не известна для всех аллелей. Риск несоответствия на участке связывания с праймером считается очень низким, поскольку никогда не наблюдался неудовлетворительный результат праймера, и было протестировано значительное

количество аллелей по всем группам. Однако следует учитывать возможность выпадения аллеля в случае гомозиготного результата.

- Надлежащая лабораторная практика и тщательное выполнение выше приведённых процедур обеспечивают специфическую амплификацию.

**- Выполнение теста**

Эффективность INNO-LiPA HLA-DQA1 Multiplex оценивалась внутри компании и в одной лаборатории тканевого типирования в Соединенном Королевстве. Всего 79 анонимных образцов (образцы из Международного обмена ДНК HLA (образцы UCLA)) были проанализированы (50 внешних; 29 внутренних). ДНК ранее была извлечена из ткани селезенки с использованием экстракции солью / осаждения этанолом и хранилась при -20 ° C.

Чистота ДНК (A260 нм / A280 нм) была известна для 69 образцов и находилась в диапазоне от 1,72 до 2,01, а концентрация после экстракции варьировалась от 0,05 до 2,85 мкг / мкл. Шестьдесят восемь образцов были протестированы при концентрации 0,05 мкг / мкл и 11 образцов при концентрации 0,1 мкг / мкл.

**Диапазон применения**

Оценка показала успешную амплификацию после первоначального тестирования в 100% (79/79 образцов; 95% CI [95,44%; 100%]) случаев с использованием 5 мкл экстрагированной ДНК в диапазоне 0,05–0,1 мкг / мкл.

Кроме того, были протестированы четыре образца ДНК из образцов цельной крови в диапазоне концентраций 1,15–1,46 мкг / мкл и разведении до концентраций 0,5 мкг / мкл и 0,02 мкг / мкл. Во всех этих случаях амплификации были успешными.

**Точность**

Четыре образца были амплифицированы в двух экземплярах тремя разными людьми, с тремя разными партиями растворов праймеров, происходящими из двух разных серий праймеров.

Все усиления прошли успешно. Панель, состоящая из четырех образцов с известной реакционной способностью и интерпретацией, была испытана внешне и внутри компании. Все усиления прошли успешно.

**Товарные знаки**

- INNO-LiPA является торговым знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными товарными знаками Applied Biosystems, LLC.

## INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra II Amp*



### Производство:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

### Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

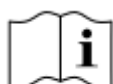
Fujirebio Italia S.r.l.  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Для получения информации на других языках посетите сайт:



[www.e-labeling.eu/FRI48938](http://www.e-labeling.eu/FRI48938)

### **+800 135 79 135**

00800 161 2205 7799  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5692  
0800 0100 567

### **ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

### **+31 20 794 7071**

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

Необъединенная Европа  
США +1 855 236 0910  
Аргентина, Бразилия,  
Колумбия, Уругвай,  
Австралия, Новая  
Зеландия, Россия

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

**СОДЕРЖАНИЕ**

|                                                                       |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                            | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                    | 2                                      |
| Принцип проведения теста .....                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                        | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....             | 4                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....          | 4                                      |
| Сбор, подготовка и выделение ДНК .....                                | 4                                      |
| (1) Шейные клетки .....                                               | 5                                      |
| (2) Первая порция мочи с консервантом UCM .....                       | 7                                      |
| Примечания и меры предосторожности .....                              | 7                                      |
| Процедура проведения теста .....                                      | 8                                      |
| Подготовка смеси ПЦР .....                                            | 8                                      |
| Цикличность ПЦР .....                                                 | 8                                      |
| Результаты .....                                                      | 9                                      |
| Проверка достоверности .....                                          | 9                                      |
| Ограничения процедуры .....                                           | 9                                      |
| Эффективность анализа .....                                           | 9                                      |
| Диапазон применения .....                                             | 9                                      |
| Разрешения .....                                                      | 10                                     |
| Товарные знаки .....                                                  | 10                                     |
| Ссылки .....                                                          | 11                                     |

**Используемые символы**

Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



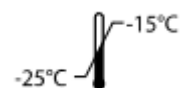
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры

Набор для амплификации  
Мастер-микс

Положительный контроль

**Предполагаемое использование**

Набор «INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II» для использования в лабораторных условиях предназначен для амплификации части области L1 вируса папилломы человека (HPV) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## Принцип проведения теста

Амплификация широкого спектра генотипов HPV требует использования консенсусных праймеров, нацеленных на область в геноме HPV, консервированных между разными генотипами. Наиболее консервированной областью в геноме HPV является область L1, и в этой области было описано несколько консенсусных наборов праймеров для ПЦР (Molijn et al. 2005). Примерами являются GP5 + / 6 + (Jacobs et al. 1997), MY09 / 11 (Hildesheim et al. др., 1994) и PGMY (Gravitt и др., 2000).

Набор праймеров, используемый в INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp, амплифицирует область длиной 65 п.н. в открытой рамке считывания L1 (Kleter et al. 1998) и имеет потенциал для амплификации по крайней мере 54 типов HPV (Safaeian et al. 2007). ). Этот набор праймеров является обновленной версией набора праймеров «SPF10». Это приложение защищено патентом Fujirebio Europe N.V. EP 1012348B, патентом США 6,482,588B и зарубежными аналогами.

Образец ДНК, предназначенный для амплификации с помощью ПЦР, помещается в смесь реагентов, содержащую большое количество дезоксинуклеотид 5'- трифосфатов (dNTPs), биотинилированные праймеры, а также термостабильную ДНК-полимеразу и урацил-N-гликозилазу (UNG).

На стадии инкубации перед амплификацией удаляются основания урацила из любых загрязняющих продуктов амплификации, присутствующих в реакционной смеси. Фермент UNG инактивируется при повышении температуры во время следующей стадии денатурации при 94 ° С.

Посредством нагрева, две нити спирали ДНК отделяются (денатурация) для того, чтобы подвергнуть целевые последовательности действию праймеров. Эти праймеры комплементарны областям, фланкирующим последовательность-цель. Таким образом, после одного цикла денатурации, отжига и удлинения получают две точные биотинилированные копии матричной последовательности.

После 40 циклов образуется огромное количество биотинилированных копий целевой последовательности.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- При условии хранения при температуре -20°C в открытом или закрытом виде (допускается 4 цикла замораживания / оттаивания), в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
- Реагенты следует хранить вдали от источников загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.
- Чтобы предотвратить контаминацию, храните положительный контроль отдельно от реагентов для амплификации и амплифицированного материала.
- Разморозьте готовый Мастер-Микс, оставив его при комнатной температуре. После оттаивания сразу же положить в охлаждающий блок или на лед. Перед использованием опустите флакон.
- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.

Поставляемые реагенты:

| <u>Компонент</u>       | <u>Кол-во</u> | <u>Номер</u> | <u>Описание</u>                                                                                                                                                                       |
|------------------------|---------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Мастер-Микс            | 1 x 1 мл      | 60587        | Содержит биотинилированные праймеры в буфере с dNTPs/dUTP MgCl <sub>2</sub> , ДНК-полимеразу AmpliTaq Gold 360, урацил-N-гликозилаза и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта. |
| Положительный контроль | 1 x 0,05 мл   | 59732        | ПЦР контроль содержит HPV6 ДНК и HLA-DPB1 ДНК и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.                                                                                        |

#### Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы

- QIAamp MinElute Media Kit, QIAGEN, кат. № 57414 или мини-набор QIAamp DNA (QIAGEN), кат. Нет 51304
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов, устойчивые к аэрозолям, не содержащие ДНК / ДНКаз.
- Стерильные микропробирки без ДНК / ДНКазы.
- ДНАЗап (Амбион, Кат. № 9890)
- Держатели для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Вortexный миксер или аналог
- Блок отопления
- Термоциклер для ДНК и оборудование
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Минеральное масло, силиконовая смазка (при необходимости)
- Этанол (96-100%)
- Деионизированная / дистиллированная вода, не содержащая ДНК / ДНКаз (степень чистоты для ПЦР)

#### Правила техники безопасности и охрана окружающей среды

- Просим обратиться к **Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).**
- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными. Таким образом, все компоненты крови и биологические материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и обращаться с ними соответствующим образом.
- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.
- Мастер-микс и положительный контроль содержат азид натрия в качестве консерванта.  
Чтобы предотвратить образование очень токсичного газа, избегайте контакта азидов натрия с кислотами.  
Чтобы предотвратить образование взрывоопасного азидов свинца или меди в водопроводе, после удаления растворов, содержащих азид натрия, тщательно промойте канализацию водой.

#### Сбор, подготовка и хранение образцов

##### Выделение ДНК

Сбор образцов, транспортировка и последующая экстракция ДНК не являются частью набора INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp.

Набор INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp проверен с использованием:

- (1) Клетки шейки матки, собранные в среде Surepath или среде PreserveCyt, с последующей процедурой экстракции, адаптированной с помощью набора QIAamp MinElute Media Kit (QIAGEN), как описано ниже. Могут использоваться и другие стандартные протоколы отбора проб цервикальных клеток в средах для сбора (например, спиртосодержащие растворы) в сочетании с экстракцией ДНК HPV с использованием любых других имеющихся в продаже наборов, но они требуют внутренней валидации.

- (2) Первая моча с консервированной UCM, собранная с помощью устройства Colli-Pee, с последующей процедурой экстракции, адаптированной к QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN), как описано ниже. Другие стандартные протоколы сбора мочи с первым мочеиспусканием в сочетании с экстракцией ДНК HPV и с использованием любых других имеющихся в продаже наборов требуют внутренней валидации.

*(1) Шейные клетки*

*Подготовка шейных клеток*

- Освободите клетки от кисти встряхиванием или тщательным перемешиванием в течение 15 секунд.
- Перенесите 1 мл суспензии цервикальных клеток в микропробирку, избегая перекрестного загрязнения между образцами.
- Вращайте флаконы со скоростью примерно 13000 об / мин в течение 15 секунд.
- Удалите супернатант с помощью чистой одноразовой пипетки с тонким наконечником для каждой реакционной пробирки. Повторно закройте каждый флакон.
- Добавьте 1 мл дистиллированной воды и ненадолго встряхните, чтобы ресуспендировать клетки.

ПРИМЕЧАНИЕ: ресуспендирование осадка клеток следует проводить в том же объеме, что и суспензию клеток шейки матки.

*Выделение ДНК с помощью набора QIAamp MinElute Media Kit (QIAGEN)*

Протокол QIAamp MinElute Media Kit (QIAGEN) был изменен, чтобы сделать его более удобным для пользователя. В этом протоколе применялось соотношение 3/4 от объема, используемое в стандартном протоколе QIAamp MinElute Media Kit:

1. Внесите пипеткой 50 мкл буфера ATL в микроцентрифужную пробирку на 2 мл (не входит в комплект).
2. Добавьте 150 мкл образца в микроцентрифужную пробирку на 2 мл.
3. Добавьте 15 мкл протеиназы QIAGEN K. Закройте крышку и перемешайте импульсным встряхиванием в течение 10 с.
4. Инкубируйте при 56 ° C в течение 30 мин. Встряхните образцы, чтобы обеспечить высокий выход нуклеиновых кислот. Для получения оптимальных результатов используйте термомиксер со скоростью 900 об / мин. При использовании нагревательного блока время от времени встряхивайте образцы в течение всего периода инкубации.
5. Кратковременно центрифугируйте пробирку объемом 2 мл, чтобы удалить капли с внутренней стороны крышки.
6. Добавьте 150 мкл буфера AL (содержащего 10 мкг / мл РНК-носителя). Закройте крышку и перемешайте импульсным встряхиванием в течение 10 с.  
Для обеспечения эффективного лизиса важно, чтобы образец, буфер ATL, протеиназа QIAGEN K и буфер AL были тщательно перемешаны до получения гомогенного раствора. При добавлении буфера AL к буферу ATL может образоваться белый осадок.  
Осадок не мешает процедуре и растворяется во время инкубации на этапе 7.
7. Инкубируйте при 70°C в течение 15 минут. Встряхните образцы, чтобы обеспечить высокий выход нуклеиновых кислот. Для получения оптимальных результатов используйте термомиксер со скоростью 900 об / мин. При использовании нагревательного блока время от времени встряхивайте образцы в течение всего периода инкубации.
8. Кратковременно центрифугируйте пробирку объемом 2 мл, чтобы удалить капли с внутренней стороны крышки.
9. Добавьте к образцу 200 мкл этанола (96–100%). Закройте крышку и тщательно перемешайте импульсным встряхиванием в течение 15 с. Инкубируйте лизат с этанолом в течение 5 минут при комнатной температуре (15–25°C).

ПРИМЕЧАНИЕ. Если температура окружающей среды превышает 25 ° C, этанол следует охладить на льду перед добавлением к лизату.

10. Кратковременно центрифугируйте пробирку на 2 мл, чтобы удалить капли с внутренней стороны крышки.
11. Вставьте колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора 2 мл.

12. Осторожно пипетируйте весь лизат, полученный на этапе 10 в колонку QIAamp MinElute, закройте крышку и центрифугируйте со скоростью 1 мин при 8000 об / мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора 2 мл и выбросьте пробирку для сбора, содержащую фильтрат.

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и добавьте 500 мкл буфера AW2 в колонку QIAamp MinElute, не смачивая край. Закройте крышку и центрифугируйте 1 мин при 8000 об / мин. Выбросьте пробирку для сбора, содержащую фильтрат.

14. Добавьте 500 мкл этанола (96–100%) в колонку QIAamp MinElute. Закройте крышку и центрифугируйте 1 мин при 8000 об / мин.

15. Выбросьте трубку для сбора, содержащую фильтрат.

16. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора 2 мл и центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об / мин) в течение 3 минут, чтобы полностью высушить мембрану.

17. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора на 1,5 мл (входит в комплект) и выбросьте 2 мл пробирку для сбора с фильтратом. Откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25 ° C) в течение 15 минут.

ПРИМЕЧАНИЕ. В качестве альтернативы для более быстрой инкубации нагрейте открытую колонку QIAamp MinElute при 56 ° C в течение 3 минут.

18. Нанесите 80 мкл буфера AVE в центр мембраны в колонке QIAamp MinElute. Закройте крышку и инкубируйте при комнатной температуре (15–25 ° C) в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об / мин) в течение 1 мин. Важно: убедитесь, что буфер AVE уже уравновешен до комнатной температуры. Инкубация колонки QIAamp MinElute, загруженной буфером AVE, в течение 5 минут при комнатной температуре перед центрифугированием, как правило, увеличивает выход.

Таблица 1. Объемы смеси буфера AL и РНК-носителя / буфера AVE, необходимые для процедуры QIAamp MinElute Media.

| № образца | Объем Буфера AL (мл) | Объем РНК-носителя / AVE (мкл) |
|-----------|----------------------|--------------------------------|
| 1         | 0,2                  | 2                              |
| 2         | 0,4                  | 4                              |
| 3         | 0,6                  | 6                              |
| 4         | 0,8                  | 8                              |
| 5         | 1                    | 10                             |
| 6         | 1,2                  | 12                             |
| 7         | 1,4                  | 14                             |
| 8         | 1,6                  | 16                             |
| 9         | 1,8                  | 18                             |
| 10        | 2                    | 20                             |
| 11        | 2,2                  | 22                             |
| 12        | 2,4                  | 24                             |
| 13        | 2,6                  | 26                             |
| 14        | 2,8                  | 28                             |
| 15        | 3                    | 30                             |
| 16        | 3,2                  | 32                             |
| 17        | 3,4                  | 34                             |
| 18        | 3,6                  | 36                             |
| 19        | 3,8                  | 38                             |
| 20        | 4                    | 40                             |
| 21        | 4,2                  | 42                             |
| 22        | 4,4                  | 44                             |
| 23        | 4,6                  | 46                             |
| 24        | 4,8                  | 48                             |



Храните ДНК при -20 ° С или продолжайте амплификацию.

Доступна автоматизированная процедура тестирования. Свяжитесь с Fujirebio Europe N.V. или вашим местным дистрибьютором для получения дополнительной информации.

## *(2) Первая моча с консервированной UCM*

### *Подготовка образцов мочи первого мочеиспускания*

Первая часть мочеиспускания (= моча с первым мочеиспусканием или FVU) захватывает слизь и остатки отшелушившихся клеток женских половых органов, включая шейку матки. Это объясняет, почему первая собранная часть мочи содержит значительно больше ДНК HPV, чем последующая часть. Колли-Пи (Новосанис) - это устройство для эффективного сбора FVU путем взятия первых 20 мл пробы мочи. В пробирку для сбора добавлен консервант UCM. Добавление консерванта нуклеиновой кислоты к образцам мочи доказало свою эффективность в предотвращении разложения нуклеазами ассоциированной и внеклеточной ДНК на этапах транспортировки, хранения и преаналитической обработки.

### *Выделение ДНК с помощью мини-набора QIAamp DNA (QIAGEN)*

*Эта процедура основана на вставке в мини-наборе QIAamp DNA.*

1. Перенесите 200 мкл образца в пробирку на 1,5 мл и добавьте 20 мкл протеиназы К и 200 мкл буфера AL (Буфер для Лизиса).
  2. Перемешайте импульсным встряхиванием в течение 15 секунд. Инкубируйте при 56 ° С в течение 30 минут.
  3. Кратковременно центрифугируйте микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл.
  4. Добавьте 200 мкл этанола (96-100%). Перемешивать импульсным встряхиванием в течение 15 секунд. Кратковременно центрифугируйте микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл.
  5. Пипетируйте смесь (620 мкл) в центрифужную колонку QIAamp (в пробирку для сбора 2 мл).
  6. Центрифугируйте в течение 1 минуты при 8000 об / мин.
  7. Выбросьте проточную и сборную трубку. Поместите центрифужную колонку QIAamp в чистую пробирку для сбора.
  8. Добавьте 500 мкл буфера AW1 в центрифужную колонку QIAamp. Центрифугируйте в течение 1 минуты при 8000 об / мин. Выбросьте проточную и сборную трубку. Поместите центрифужную колонку QIAamp в чистую пробирку для сбора.
  9. Добавьте 500 мкл буфера AW2 в центрифужную колонку QIAamp. Центрифугируйте 3 минуты при 14000 об / мин. Выбросьте проточную и сборную трубку. Поместите центрифужную колонку QIAamp в чистую пробирку для сбора. Центрифугируйте в течение 1 минуты при 14000 об / мин.
  10. Выбросьте проточную и сборную трубку. Поместите центрифужную колонку QIAamp в чистую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл.
  11. Добавьте 50 мкл буфера AE (буфер для элюции). Инкубируйте при комнатной температуре 5 минут. Центрифугируйте в течение 1 минуты при 8000 об / мин. Пробирка для микроцентрифуги содержит элюированную ДНК.
- Храните ДНК при -20 ° С или продолжайте амплификацию.

## **Примечания и меры предосторожности**

- Для того чтобы избежать загрязнения ДНК, рекомендуется обеспечить максимальное физическое разделение между этапами до и после амплификации: отдельные помещения, отдельные дозаторы и прочие лабораторные материалы, отдельные лабораторные халаты и перчатки (и их запасы) являются минимальными мерами предосторожности согласно надлежащей лабораторной практике. Реагенты должны быть изолированы от любого источника загрязняющей ДНК, особенно от продуктов амплификации ДНК. Также избегайте микробного загрязнения реагентов.

- Избегайте обратного перемещения материалов из пост-ПЦР-зоны в пре-ПЦР-зону.
- Все наконечники дозаторов и пробирки, которые используются в процессе амплификации, должны быть стерилизованы в автоклаве. Рекомендуются наконечники для пипеток,

- устойчивые к аэрозолям. Для каждого аликвотированного образца используйте новый наконечник пипетки, не содержащей ДНК / ДНКаз.
- С реагентами для процессов амплификации следует обращаться в помещении, свободном от ДНК.
- После размораживания встряхните мастер-микс, трижды перевернув флакон, перемешайте положительный контроль на вортексе и замедлите все реагенты.

## Процедура проведения теста

### ПРИМЕЧАНИЕ:

- Данный протокол был разработан для оптимальной амплификации в пробирках для ПЦР объемом 0,2 мл в термоциклах GeneAmp ПЦР-системы 9700.
- Данный протокол может использоваться для большинства коммерческих термоциклеров, однако может требовать некоторых изменений, указанных производителем термоциклера.
- Перед использованием следует определить, совместим ли протокол с термоциклером, который используется в Вашей лаборатории.
- Перед использованием термоциклер должен быть обязательно откалиброван.

### Подготовка смеси ПЦР

Очень важно использовать правильное количество каждого компонента. Слишком много или слишком мало образца или реагентов может привести к специфической амплификации или даже к отсутствию амплификации.

**ВАЖНОЕ ПРИМЕЧАНИЕ.** Готовьте смесь для ПЦР на льду и избегайте ненужных задержек в настройке цикла.

1. Определите количество флаконов, которые необходимо подготовить (N), следующим образом:  
 $N = \text{количество образцов ДНК} + 1 \text{ (отрицательный контрольный образец; без ДНК)} + 1 \text{ (КОНТРОЛЬНЫЙ +)}$
2. Объем Мастер-Микса, необходим для 1 образца: 40,0 мкл Мастер-Микса.
3. Аликвотируйте 40 мкл этой мастер-смеси в пробирки для амплификации без ДНК / ДНКазы. При необходимости покройте смесь для ПЦР минеральным маслом.
4. Внесите 10 мкл экстрагированного материала в смесь для ПЦР. Добавьте 10 мкл CONTROL + в пробирку с положительным контролем. Добавьте 10 мкл дистиллированной воды без ДНК / ДНКазы в пробирку для отрицательного контроля.
5. Поместите образцы в предварительно нагретый и откалиброванный термоблок (см. Инструкции производителя).  
Запустите программу амплификации, разработанную для амплификации INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II.

**Цикличность ПЦР**

Следует выбрать правильный температурный профиль для амплификации INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II.

Профиль ПЦР INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II (тип циклера: GeneAmp PCR System 9700):

| Этап                  | Температура | Время   |                                                              |
|-----------------------|-------------|---------|--------------------------------------------------------------|
| 1 Обеззараживание     | 37°C        | 10 мин  | Расщепление урацил-содержащей ДНК                            |
| 2 Денатурация         | 94°C        | 9 мин   | Инактивация УНГ и активация ДНК-полимеразы AmpliTaq Gold 360 |
| 3 Денатурация         | 94°C        | 30 сек. | 40 раз повторить этапы 3-5<br>Продолжительность < 2 часа     |
| 4 Отжиг праймеров     | 52°C        | 45 сек. |                                                              |
| 5 Достройка праймеров | 72°C        | 45 сек. |                                                              |
| 6 Держать при 72 ° C  |             |         |                                                              |

ПРИМЕЧАНИЕ: Тот же самый профиль амплификации используется для всех изделий класса II INNO-LiPA HLA кроме INNO-LiPA HLA-DPB

Удалите пробирки из термоциклера, сразу же храните ампликон при -20 ° ± 5 ° C или сразу переходите к INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II.

ПРИМЕЧАНИЕ: Не храните амплифицированные ДНК продукты вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты****Проверка достоверности**

- Включать, по меньшей мере, один положительный и один отрицательный контрольный образец каждый раз при выполнении реакции амплификации. Как и при любой новой лабораторной процедуре, следует учитывать включение дополнительных положительных и отрицательных контрольных образцов, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения тестовой процедуры.
- Если включение дополнительного положительного контрольного образца является целесообразным, используйте известный положительный образец.

**Ограничения процедуры**

- Использование данного продукта должно ограничиваться только персоналом, обученным технике амплификации.
- Пудра из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия имеют ингибирующее действие на амплификацию.
- Сильно гемолизированные образцы могут препятствовать амплификации ПЦР и приводить к ложноотрицательным результатам.
- По проверке действия возможных мешающих веществ не проводилось никаких экспериментов.
- Повторное замораживание / оттаивание образцов ДНК может привести к менее эффективной амплификации.
- Конкретное усиление зависит от надлежащей лабораторной практики и тщательного выполнения процедур, как указано в Примечаниях и мерах предосторожности и в Рекомендациях по дизайну и процедурам лаборатории.

**Эффективность анализа**

См. вставку INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II.

**Диапазон применения**

Рекомендуется следующая последовательность действий:

1. Приготовление и аликвотирование смесей для ПЦР.

2. Подготовка образцов (выделение ДНК)
3. Полимеразная цепная реакция.
4. Анализ биотинилированных продуктов ПЦР обратной гибридизацией.

Персонал, задействованный на этапах 3 и 4, не должен впоследствии участвовать в работе на этапах 1 и 2 в один и тот же день. После участия в шаге 2, не участвуйте в работе над шагом 1 в тот же день.

Чтобы предотвратить загрязнение (например, амплимером) образцов и избежать ложноположительных результатов, процедуру следует проводить в трех физически разделенных комнатах, каждая со своим набором расходных материалов и пипеток. Одна комната необходима для подготовки реагентов, другая - для пробоподготовки, а третья - для амплификации и обнаружения амплимеров. Все оборудование следует хранить в помещении, где оно используется, и не переносить его из одного помещения в другое. Наконечники для пипеток, устойчивые к аэрозолям, следует использовать для предотвращения перекрестного загрязнения между образцами. По той же причине носите одноразовые смотровые перчатки и часто их меняйте.

### ***Помещение 1 - хранение и подготовка реагентов***

В этой комнате и в ее оборудовании не должно быть ДНК. Эта комната предназначена только для приготовления реагентов для ПЦР. Положительный контроль не следует приносить в комнату 1. Персонал должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты. При работе с реагентами надевайте одноразовые перчатки.

### ***Помещение 2 - подготовка проб***

В этой комнате и в ее оборудовании не должно быть амплимеров. Персонал, участвующий в обработке образцов, должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты. Во время подготовки пробы следует часто носить и менять одноразовые перчатки. Осторожно откройте пробирки, содержащие (обработанный) образец. Избегайте одновременного открытия более чем одного реакционного флакона с образцом.

Во избежание загрязнения или для очистки загрязненных поверхностей рекомендуется очищать пипетки и рабочие поверхности с помощью DNAZap (Ambion). Имейте в виду, что использование DNAZap является лишь дополнительной мерой предосторожности, и описанные рекомендации по дизайну и процедурам лаборатории следует соблюдать как можно строже.

### ***Помещение 3 – усиление и обнаружение амплимеров***

Персонал, занимающийся амплификацией и обнаружением амплимеров, должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты и который необходимо менять ежедневно. При работе с амплимером надевайте одноразовые смотровые перчатки.

### ***Разрешения***

Этот продукт продается в соответствии с лицензионными соглашениями между Fujirebio Europe N.V. и Invitrogen IP Holdings, Inc. Покупная цена этого продукта включает ограниченные непередаваемые права под номерами европейских патентов 0401037; 0522884; и 0415755 и соответствующие иностранные патенты, кроме патентов США, принадлежащих Invitrogen Corporation, на использование только этого количества продукта для практического применения заявлений в указанных патентах исключительно для деятельности покупателя по обнаружению вируса папилломы человека (HPV) в данной области. диагностики человека. Никакие другие права не передаются.

### ***Товарные знаки***

- INNO-LiPA является товарным знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- GeneAmp - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems, LLC.
- QIAamp - зарегистрированная торговая марка QIAGEN Group.
- DNAZap является товарным знаком Ambion Inc., США.
- PreservCyt является зарегистрированным товарным знаком Hologic Inc., США.
- Surepath - торговая марка BD Diagnostics, США.
- AmpliTaq Gold является зарегистрированным товарным знаком Roche Molecular Systems Inc., США.
- Colli-Pee является товарным знаком компании Новосанис.

## Ссылки

- Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM и др. Улучшенная амплификация генитальных вирусов папилломы человека. J Clin Microbiol. 2000; 38: 357-361.
- Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG и др. Персистенция типоспецифической инфекции вируса папилломы человека среди цитологически нормальных женщин. J Infect Dis. 1994; 169: 235-240.
- Якобс М.В., Снайдерс П.Дж., ван ден Брюле А.Дж., Хелмерхорст Т.Дж. и др. Общий праймер GP5 + / GP6 (+) - опосредованный иммуноферментным методом ПЦР для быстрого обнаружения 14 генотипов вируса папилломы человека высокого риска и 6 генотипов низкого риска в соскобах шейки матки. J Clin Microbiol. 1997; 35: 791-795.
- Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, Schrauwen L, et al. Новый метод ПЦР с короткими фрагментами для высокочувствительного обнаружения аногенитальных вирусов папилломы человека в широком спектре. Am J Pathol. 1998; 153: 1731-1739.
- Молин А., Клетер Б., Квинт В., ван Дорн Л.Дж. Молекулярная диагностика инфекций вируса папилломы человека (ВПЧ). J Clin Virol. 2005; 32S: S43-S51.
- Safaeian M, Herrero R, Hildesheim A, Quint W и др. Сравнение системы SPF10-LiPA с анализом Hybrid Capture 2 для выявления канцерогенных генотипов вируса папилломы человека среди 5683 молодых женщин в Гуанакасте, Коста-Рика. J Clin Microbiol. 2007; 45: 1447-1454.
- Паттин Дж. И др. 2019. Обнаружение вируса папилломы человека в моче: влияние устройства для сбора первой мочеиспускания и время сбора. Дж. Вирол Мет 264: 23-30.
- Форстерс А. и др. 2014а. Оптимизация обнаружения ДНК HPV в моче за счет улучшения сбора, хранения и извлечения. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 33 (11): 2005-2014.

## INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra II*



### Производство:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologiepark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на  
выделенные цветом изменения»

### Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

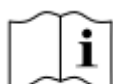
Fujirebio Italia S.r.l.  
Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.  
Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

Для получения информации на других языках посетите сайт:



[www.e-labeling.eu/FRI24986](http://www.e-labeling.eu/FRI24986)

### **ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия

**+800 135 79 135**  
00800 161 2205 7799  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5692  
0800 0100 567

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

### **Необъединенная Европа**

США  
Канада  
Аргентина, Бразилия, Колумбия,  
Уругвай, Австралия, Новая Зеландия,  
Россия

**+31 20 794 7071**  
+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                              |                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                                                                   | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                                                           | 3                                      |
| Принцип проведения теста .....                                                                               | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                                                               | 4                                      |
| <i>Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения</i> .....                           | 4                                      |
| Поставляемые реагенты .....                                                                                  | 4                                      |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                                                    | 5                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                                                 | 6                                      |
| Образцы .....                                                                                                | 7                                      |
| Примечания и меры предосторожности .....                                                                     | 7                                      |
| Подготовительные и ручные процедуры проведения теста .....                                                   | 7                                      |
| <i>Обращение с индикаторной полосой</i> .....                                                                | 7                                      |
| Ручная процедура проведения теста .....                                                                      | 8                                      |
| <i>Инструкции по инкубации</i> .....                                                                         | 8                                      |
| <i>Указания по замене жидкости в желобах</i> .....                                                           | 8                                      |
| <i>Гибридизация</i> .....                                                                                    | 9                                      |
| <i>Жесткая промывка</i> .....                                                                                | 9                                      |
| <i>Проявление цвета</i> .....                                                                                | 10                                     |
| Автоматизированные процедуры проведения теста .....                                                          | 10                                     |
| Результаты .....                                                                                             | 10                                     |
| <i>Считывание</i> .....                                                                                      | 10                                     |
| <i>Контроль качества</i> .....                                                                               | 11                                     |
| <i>Интерпретация результатов</i> .....                                                                       | 11                                     |
| Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для LiPA HPV .....                                          | 13                                     |
| Ограничения процедуры .....                                                                                  | 13                                     |
| Рекомендации по дизайну и процедурам лаборатории .....                                                       | 13                                     |
| Выполнение теста .....                                                                                       | 14                                     |
| <i>Инклюзивность</i> .....                                                                                   | 14                                     |
| <i>Соглашение с INNO-LiPA HPV Genotyping Extra</i> .....                                                     | 14                                     |
| <i>Программное обеспечение LiRAS для LiPA HPV</i> .....                                                      | 15                                     |
| <i>Точность</i> .....                                                                                        | 15                                     |
| <i>Согласованность между суспензиями цервикальных клеток и образцами мочи с первым мочеиспусканием</i> ..... | 15                                     |
| <i>Аналитическая чувствительность</i> .....                                                                  | 15                                     |
| Товарные знаки .....                                                                                         | 16                                     |

## Используемые символы



Производитель



Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии



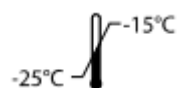
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Содержит достаточное количество для тестов &lt;n&gt;

|                    |                              |
|--------------------|------------------------------|
| CONJ 100x          | Конъюгат 100x                |
| CONJ DIL           | Разбавитель конъюгата        |
| DENAT SOLN         | Денатурирующий раствор       |
| HYBRIDIZ SOLN      | Раствор для гибридизации     |
| RINSE SOLN 5x      | Промывающий раствор 5x       |
| STRIN WASH SOLN    | Раствор для жесткой промывки |
| STRIPS             | Полосы                       |
| SUBS BCIP/NBT 100x | Субстрат BCIP/NBT 100x       |
| SUBS BUF           | Субстратный буфер            |
| DANGER             | Опасность                    |
| WARNING            | Предупреждение               |
| LiPA               | Анализ линейного зонда       |

### Предполагаемое использование

Набор «INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II» для использования *в лабораторных условиях* предназначен для амплификации части области L1 вируса папилломы человека (HPV) с помощью полимеразной цепной реакции (HPV), **извлеченных из клеток шейки матки в жидкой среде или в моче первого мочеиспускания.**

Выявлены и идентифицированы следующие генотипы HPV:

- HPV HR\* GT: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
- HPV pHR\* GT: 26, 53, 66, 70, 73, 82
- HPV LR\* или не классифицированные GT: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 67, 81, 83, 89

(\*) Обозначение HR, pHR или LR используется только для информации и основано на публикациях Munoz et. al. (2003) и Монографии IARC Volume 100B (2012).

Результаты теста следует использовать вместе с другой клинической информацией

### Принцип проведения теста

Тесты типирования INNO-LiPA HLA основываются на принципе обратной гибридизации

Часть области L1 (область SPF10) вируса папилломы человека (HPV) геном амплифицируется специфичными праймерами HPV и полученные биотинилированные ампликоны затем денатурируются и гибридизуются со специфическими олигонуклеотидными зондами. Дополнительно пара праймеров для амплификации гена HLA-DPB1 человека добавляется для мониторинга качество пробы и извлечения. Все датчики иммобилизованы в виде параллельных линий на полоски мембраны. После гибридизации и жесткой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный с щелочной фосфатазой, и он связывается с любым ранее образовавшимся биотинилированным гибридом.

Инкубация с хромогеном BCIP / NBT дает пурпурный осадок, и результаты могут быть интерпретированы визуально или с помощью программного обеспечения LiRAS для LiPA HPV.

Набор для амплификации (INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp) предусмотрен для стандартизированного приготовления биотинилированного амплифицированного материала. Набор для амплификации основан на полимеразной цепной реакции (PCR), используя основные SPF10 праймеры.

Применение SPF10 в INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II защищено Fujirebio Europe N.V. EP, патент 1012348B, патент США 6,482,588B и иностранные эквиваленты.

Затем продукты амплификации гибридизируют с использованием одной типизирующей полоски, на которой фиксируются 32 последовательные специфичные ДНК-зонды и 4 контрольные линии (см. Рисунок 1).

Анализ INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II: этапы

Шаг 1 Амплификация выделенной ДНК.

Шаг 2 Гибридизация амплифицированного продукта на полоске с последующей тщательной промывкой.

Шаг 3 Добавление конъюгата и субстрата, в результате чего появляется цвет.

Шаг 4 Визуальная интерпретация паттерна сигнала или использование LiRAS для LiPA HPV программного обеспечения.



**Реагенты****Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения**

- При условии хранения при температуре 2 -8°C в открытом или закрытом виде в оригинальных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. **Не используйте реагенты после истечения срока годности. Не замораживайте реагенты.**
- Реагенты следует хранить вдали от источников, загрязняющих ДНК, особенно амплифицированных продуктов ДНК.
- Чтобы предотвратить контаминацию, храните положительный контроль отдельно от реагентов для амплификации и амплифицированного материала.
- Все реактивы и пробирку с полосками следует отнести в комнату с температурой (20-25 ° C) примерно за 60 минут до использования и вернуть в холодильник сразу после использования.
- Изменения во внешнем виде компонентов набора могут указывать на нестабильность или ухудшение свойств.
- Чтобы свести к минимуму вероятность скручивания полосок перед использованием, рекомендуется хранить трубку горизонтально.

**Поставляемые реагенты:**

| <b>Компонент</b>           | <b>Кол-во</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------|---------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                    | 1 x 20        | 60584        | Содержит 20 INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II полосок, отмеченных синим маркером.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Денатурационный раствор    | 1 x 1 мл      | 56718        | Щелочной раствор, содержащий ЭДТА. Этот флакон следует закрыть сразу после использования; продолжительное воздействие этого раствора на воздух приводит к быстрому ухудшению денатурирующей силы.                                                                                                                                                                                                                             |
| Раствор для гибридизации   | 1 x 80 мл     | 57420        | Буфер SSC, содержащий лаурилсульфат натрия (SLS) и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта, предварительно нагреть до температуры не менее 37 ° C и не выше 49 ° C.                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Строгий моющий раствор     | 1 x 200 мл    | 57421        | Буфер SSC, содержащий SLS и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта, предварительно нагреть до температуры не менее 37 ° C и не выше 49 ° C.                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x              | 1 x 0,8 мл    | 56952        | Стрептавидин, отмеченный щелочной фосфатазой в Tris буфере, содержащий стабилизаторы белка и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта. Для разведения 1/100 в разбавителе конъюгата: приготовьте 2 мл рабочего раствора конъюгата для каждой тестовой емкости + 2 мл излишка для ручного тестирования. Рабочий раствор конъюгата стабилен в течение 8 часов при комнатной температуре (20-25 ° C) при хранении в темноте. |
| Конъюгат разбавитель       | 1 x 80 мл     | 56951        | Фосфатный буфер, содержащий NaCl, детергент, стабилизаторы протеина и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Субстрат BCIP / NBT100x    | 1 x 0,8 мл    | 56954        | BCIP и NBT в DMF. Перед использованием развести 1/100 в буфере для субстрата: приготовьте 2 мл рабочего раствора субстрата для каждой тестовой емкости + 2 мл излишка для ручного тестирования. Рабочий раствор субстрата стабилен в течение 8 часов при комнатной температуре (20-25 ° C) при хранении в темноте.                                                                                                            |
| Буферный субстрат          | 1 x 180 мл    | 56953        | Tris буфер, содержащий NaCl, MgCl <sub>2</sub> , 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Раствор для полоскания 5x  | 1 x 80 мл     | 56721        | Фосфатный буфер, содержащий NaCl, детергент и 0,05% MIT / 0,48% CAA в качестве консерванта. Перед применением развести 1/5 дистиллированной или деионизированной воды: приготовить 8 мл рабочего раствора для ополаскивания для каждой тестовой ванны + 10 мл для ручного тестирования. Рабочий раствор для полоскания стабилен в течение 2 недель при 2-8 ° C.                                                               |
| Инкубационные лотки        | 3             | -            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Карта считывания           |               |              | Для идентификации положительных зондов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Формуляр для выдачи данных | 1             | -            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                            | 1             | -            | Для хранения проявленных полос                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

**Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы**

- INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов, устойчивые к аэрозолям, не содержащие ДНК / ДНКаз.
- Стерильные микропробирки без ДНК / ДНКазы.
- Шпцы для работы с полосками
- Градуированные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Дозаторы, регулируемые для введения по 1 - 20 мкл, 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл.
- Вortexный миксер или аналог
- Микроцентрифуга
- Материалы, необходимые только для ручной процедуры:
- Водяная баня с платформой для встряхивания (80 об / мин; с наклонной крышкой; регулировка температуры до 49 ° C ± 0,5 ° C).
- Аппарат аспирационный.
- Градуированный термометр.
- Орбитальный, возвратно-поступательный или качающийся платформенный шейкер.
- Рекомендации:
- *Для орбитального шейкера:*
  - Диаметр кругового вращения должен быть не менее 13 мм.
  - Рекомендуемая скорость для кругового вращения для 13 мм составляет 160 об / мин.
- *Для ответного шейкера:*
  - Рекомендуемая скорость движения вперед-назад - 80 движений в минуту.
- *Для встряхивающей платформы-качалки:*
  - Угол встряхивания не должен превышать 13 °, чтобы избежать проливания жидкости.
  - Рекомендуемая скорость 50 об / мин.
- Мультипипетка для дозирования (опция Eppendorf ).
- Таймер, 2 часа (± 1 минута).

**Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

- Просим обратиться к Формуляру с данными по технике безопасности (ФДТП) и этикеткам продукции для ознакомления с информацией о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия ФДТП доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).

|                                                                                   |                |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Опасность      | <b>DENAT SOLN</b><br>Содержит гидроксид натрия<br>H314 P260 P280 P303 + P361 + P353 P305 + P351 + P338 P310 P363                                                                                                                                                        |
|  | Предупреждение | <b>RINSE SOLN 5x</b><br>Содержит 2-хлорацетамид<br>H317 P280 P261 P362 + P364 P333 + P313 P302 + P352                                                                                                                                                                   |
|  | Опасность      | <b>SUBS BCIP/NBT 100x</b><br>Содержит N, N-диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис-(4-нитрофенил) -2,2'- (3,3'-диметоксибифенил-4,4'-илен) дитетразолий дихлорид и метанол<br>H312 + H332 H319 H360D<br>P261 P280 P201 P303 + P361 + P353 P305 + P351 + P338 P308 + P313 |

**Предупреждения об опасности**

H312 + H332 H314

H317

H319

H360D

**Меры предосторожности**

P201

P260

P261

P280

P302+P352

P303+P361+P353

P305+P351+P338

P308+P313

P310

P333+P313

P362+P364

P363

Вредно при контакте с кожей или при вдыхании. Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. Может вызвать аллергическую кожную реакцию. Вызывает серьезное раздражение глаз.

Может повредить будущему ребенку.

Перед использованием получить специальные инструкции.

Не вдыхать туман / пары / аэрозоль.

Избегайте вдыхания тумана / паров / аэрозолей.

Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица.

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды  
ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или принять душ].

ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они есть и это легко сделать. Продолжайте полоскание.

В случае воздействия или обеспокоенности: обратиться за медицинской консультацией / помощью.

Немедленно позвоните в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР /врачу / ...

При появлении раздражения кожи или сыпи: обратиться к врачу. Снимите загрязненную одежду и постирайте ее перед повторным использованием. Постирать загрязненную одежду перед повторным использованием.

- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
- С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными. Таким образом, все компоненты крови и биологические материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и обращаться с ними соответствующим образом.
- Все компоненты крови и биологические материалы следует утилизировать в соответствии с одной из следующих установленных процедур безопасности.
  - Автоклав не менее 15 минут при 121 ° C.
  - Сжигайте одноразовый материал.
  - Смешайте жидкие отходы с гипохлоритом натрия так, чтобы конечная концентрация гипохлорита натрия составляла ± 1%. Перед утилизацией дайте постоять ночь.

Внимание: нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоту, перед добавлением гипохлорита натрия.

- При работе с опасными или инфицированными веществами необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и защитные очки.
- Удалять отходы следует согласно установленным в учреждении правилам по удалению отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные законодательные постановления по защите окружающей среды.

### Образцы

Поскольку в тесте INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II используется биотинилированный амплифицированный материал ДНК, набор для амплификации INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp доступен в качестве сопутствующего инструмента для амплификации соответствующей ДНК из образцов:

- (1) Цервикальные клетки, собранные в среде Surepath или PreservCyt,
- (2) Первое мочеиспускание с консервантом

### Примечания и меры предосторожности

- Только для профессионального использования.
- Не смешивайте реагенты из разных наборов, если компоненты не имеют одинаковых номеров партий.
- Не используйте повторно одноразовый лабораторный материал.
- Все сосуды, используемые для приготовления растворов конъюгатов и субстратов, необходимо тщательно очистить и промыть дистиллированной водой.
- Избегайте микробного загрязнения реагентов.
- Используйте новый наконечник пипетки, свободной от ДНК / ДНКазы, для каждого аликвотированного образца. Рекомендуются стерильно упакованные, устойчивые к аэрозолям, одноразовые наконечники для пипеток.

### Подготовительные и ручные процедуры проведения теста

#### Обращение с индикаторной полосой

- Полоски предназначены для однократного использования!
- Не трогайте полоски голыми руками; использовать чистые щипцы.
- Используйте **карандаш** для идентификации тест-полосок. Не используйте шариковые ручки и т. д. Напишите идентификатор над линией маркера на полосках.
- Поместите тест-полоски в лотки покрытой мембраной вверх (эта сторона отмечена).
- Тест-полоски должны всегда оставаться в одном и том же лотке на разных этапах инкубации.
- Неиспользованные или проявленные полоски следует хранить вдали от яркого света и тепла.
- Перед интерпретацией, закрытием и хранением дайте проявленным полоскам полностью высохнуть.
- Развитые сухие полоски желательно хранить в темноте при комнатной температуре. (20-25 ° C).
- Не используйте желоба повторно.

## **Ручная процедура проведения теста**

### **Инструкции по инкубации**

- Гибридизация и инкубация при строгой промывке должны выполняться **точно при 49 ° С** и являются наиболее важными шагами, чтобы избежать ложноположительных (слишком низкая температура) или ложноотрицательных / очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня со **встряхиванием** и наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать колебания температуры. Необходим строгий контроль температуры (в пределах 0,5 ° С от заданного значения 49 ° С) с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани во время инкубации, чтобы избежать ложноположительных сигналов.
- Не используйте шейкер с горячим воздухом для гибридизации и строгой стирки.
- Амплитуда движения, создаваемого как встряхивающей водяной баней (гибридизация и процедура строгой промывки), так и орбитальным, возвратно-поступательным встряхивателем или качающейся платформой (процедура проявления цвета) имеет решающее значение для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Амплитуда должна быть как можно большей, чтобы и жидкость, и тест-полоски двигались в лотке вперед и назад. Однако следует избегать проливания жидкости за края желобов.
- Для гибридизации и строгой промывки желоба следует поместить на платформу для встряхивания водяной бани. Установите уровень воды в пределах от 1/3 до 1/2 высоты желоба. Убедитесь, что желоба не плавают по воде. Вода должна напрямую контактировать с желобами.
- Инкубационные этапы для развития окраски следует проводить при температуре 20-25 ° С. Если температура ниже 20 ° С, могут быть получены более слабые результаты. Если температура выше 25 ° С, могут быть получены высокий фон и / или ложноположительные сигналы.
- Необходимо строго соблюдать указанное время инкубации для гарантированно- правильного выполнения анализа.
- Не закрывайте лоток. Во время гибридизации и инкубации при строгой отмывке желоба можно оставлять открытыми на водяной бане. Закрытие желобов герметиком для микропланшетов может привести к перекрестному загрязнению.

### **Указания по замене жидкости в желобах**

- Заберите жидкость из лотка с помощью пипетки, желательно присоединенной к вакуумному аспиратору. Держите лоток под углом, чтобы вся жидкость стекала к одному концу лотка.
- Добавьте по 2 мл соответствующего раствора в каждый желоб и следуйте протоколу.

- ПРИМЕЧАНИЕ: для этой цели можно использовать дозирующую Multipette (Eppendorf).
- Повторите этот шаг столько раз, сколько указано в протоколе проверки.
- ПРИМЕЧАНИЕ:
  - Не позволяйте полоскам высыхать между этапами промывки.
  - Убедитесь, что поверхность полосок не повреждена при аспирации. Желательно аспирировать жидкость сверху полоски над линией маркера.
  - Убедитесь, что вся полоска тщательно промыта, полностью погрузив ее в раствор.
  - При необходимости измените скорость шейкера.

## **Гибридизация**

ПРИМЕЧАНИЕ. Используйте одноразовые перчатки и щипцы.

1. Нагрейте водяную баню со встряхиванием **точно до 49 ° C**. Проверьте температуру с помощью калиброванного термометра и при необходимости отрегулируйте. Предварительно нагрейте гибридизационный раствор и жесткий промывочный раствор как минимум до 37 ° C, но не выше 49 ° C.

Перед употреблением следует перемешать.

2. С помощью щипцов извлеките необходимое количество тест-полосок из пробирки (1 полоска на образец) и нанесите карандашом идентификационный номер над линией маркера на полоске.

3. Возьмите необходимое количество тестовых желобов (1 желоб на полоску) и поместите их в лоток.

4. Внесите пипеткой 10 мкл денатурационного раствора в верхний угол каждого желоба.

ПРИМЕЧАНИЕ. Закройте флакон сразу после использования.

5. Добавьте 10 мкл амплифицированного биотинилированного продукта к раствору для денатурации и осторожно перемешайте пипеткой вверх и вниз несколько раз. Всегда используйте наконечники для пипеток, устойчивые к аэрозолям, не содержащие ДНК / ДНКаз. Дайте денатурации пройти 5 минут при комнатной температуре (20-25 ° C).

6. Встряхните предварительно нагретый раствор для гибридизации и осторожно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждый желоб. Будьте осторожны, чтобы не загрязнить соседние желоба во время дозирования.

7. Немедленно поместите полоску маркированной стороной вверх в желоб.

Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

8. Поместите поднос в водяную баню со встряхиванием 49 ° C (примерно 80 об / мин; см. «Указания по инкубации»), закройте крышку и инкубируйте в течение 60 минут.

ПРИМЕЧАНИЕ: Избегайте попадания воды из водяной бани в желоб. Установите уровень воды в пределах от 1/3 до 1/2 высоты желоба.

## **Жесткая промывка**

- После гибридизации снимите лоток с водяной бани.
- Держите лоток под небольшим углом и откачайте жидкость из лотка с помощью пипетки, желательной присоединенной к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно нагретого жесткого промывочного раствора в каждый желоб и промойте, встряхивая лоток в течение 10–20 секунд при комнатной температуре. Удалите раствор из каждой кормушки.
- Повторите этот этап промывки один раз (см. Также «Инструкции по замене жидкости в желобах»).

- Наконец, аспирируйте раствор и инкубируйте каждую полоску в 2 мл предварительно нагретого жесткого промывочного раствора на водяной бане со встряхиванием при 49 ° С в течение 30 минут. Закройте крышку водяной бани.

ПРИМЕЧАНИЕ. Приготовьте раствор для полоскания и конъюгируйте во время инкубации в строгом режиме (см. «Реагенты»).

### **Проявление цвета**

Все последующие инкубации проводят **при 20-25 ° С на шейкере**.

1. Промойте каждую полоску дважды в течение 1 минуты, используя 2 мл разбавленного раствора для полоскания. (см. «Инструкции по замене жидкости в желобах»). Аспирируйте.

2. Добавьте по 2 мл раствора конъюгата в каждую чашу и инкубируйте 30 минут при встряхивании. Аспирируйте.

ПРИМЕЧАНИЕ. Приготовьте раствор субстрата примерно за 10 минут до окончания инкубации конъюгата (см. «Реагенты»).

3. Промойте каждую полоску дважды в течение 1 минуты, используя 2 мл разбавленного раствора для полоскания, и еще раз промойте, используя 2 мл субстратного буфера. Аспирируйте.

4. Добавьте по 2 мл раствора субстрата в каждый желоб и инкубируйте 30 минут при встряхивании. Аспирируйте.

5. Остановите проявление цвета, дважды промывая полоски 2 мл дистиллированной воды при встряхивании не менее 3 минут.

6. Используя пинцет, извлеките полоски из желобов и поместите их на впитывающую бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть и закрепите их на листе отчетности.

Самая верхняя линия - линия маркера. Сопряженная контрольная линия помогает правильно выравнивать полоски на листе отчетности.

### **Автоматизированные процедуры проведения теста**

Инструменты и соответствующие протоколы доступны в Fujirebio Europe N.V.

(см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

### **Результаты**

#### **Считывание**

Полоски следует читать только тогда, когда они полностью высохли. Все видимые линии должны быть оценены с помощью карты для считывания INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II, совместив синюю линию маркера на полоске с отметкой линии маркера на карте для считывания.

На рисунке 1 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полоске INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II. Линия считается положительной, если в конце процедуры тестирования появляется пурпурная / коричневая полоса.

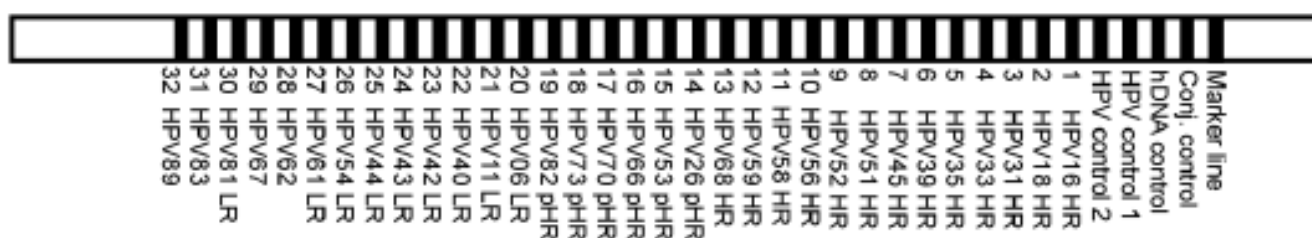


Рисунок 1: Расположение конкретных зондов на полоске INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II. Маркерная линия присутствует в верхней части полосы для ориентации. Эта маркерная линия синего цвета, и ее можно отличить от полосы INNO-LiPA HPV Genotyping Extra по этой цветовой разнице.

### Контроль качества

- Первая линия (сразу под линией маркера) - это сопряженная контрольная линия. Эта линия контролирует добавление реактивного конъюгата и раствора субстрата во время процедуры обнаружения. Она всегда должна быть положительной и иметь примерно одинаковую интенсивность на каждой полоске в одном и том же тесте. Отрицательный результат на контрольной линии конъюгата указывает на ошибку в проявлении цвета в анализе. Результат теста следует рассматривать как недействительный, и рекомендуется повторить анализ LiPA.

- Вторая линия - контрольная линия ДНК человека. Праймеры, амплифицирующие фрагмент гена HLA-DPB1 человека, добавляются к набору для амплификации HPV для контроля качества образца и эффективности экстракции. Эта линия всегда должна быть положительной; однако, если в образце присутствует большое количество HPV, возможно, что контрольная линия ДНК человека будет отрицательной из-за конкуренции между HPV и ДНК человека.

- Всегда включайте положительный контроль цикла: например, положительный контроль амплификации, включенный в набор INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp. Положительный контроль содержит HPV6 и HLA-DPB1 и должен реагировать на следующие линии: контроль ConJ, контроль hDNA, контроль HPV 1 и линия 20 (HPV6). Если для положительного контроля получен отрицательный или отклоняющийся паттерн LiPA, весь цикл следует отбросить, а всю процедуру следует повторить, начиная с ПЦР.

- Всегда включайте отрицательный контрольный прогон: предпочтительно, это должен быть отрицательный образец, который обрабатывается одновременно с образцами пациента на этапе выделения ДНК и ПЦР. Если положительная полоса получена на LiPA для отрицательного контроля, (за исключением контроля hDNA, который должен быть положительным в случае отрицательного на HPV клинического образца) весь цикл следует отбросить, а всю процедуру, начиная с выделения ДНК, следует повторить.

### Интерпретация результатов

- Образец считается положительным HPV, если по крайней мере одна из линий конкретного типа является положительной или если одна из контрольных линий HPV положительна.

- Образцы, которые не генерируют каких-либо положительных типоспецифичных линий (строки 1–32), но имеют хотя бы одну положительную контрольную линию HPV, должны быть оценены как положительные HPV, но не являются типовыми («HPV»).

- Если более чем одна линия генотипа HPV является положительной, смесь этих генотипов HPV присутствует.



- Образец считается HPV-отрицательным, если контрольная линия hDNA является положительной, а все линии, специфичные для HPV (включая контрольные линии HPV), отрицательны.

- Если ни одна из линий, специфичных для типа HPV, не является положительной, а контрольная линия гДНК отрицательна, результат теста следует рассматривать как недействительный. Этот результат теста может указывать на неадекватный сбор, обработку образцов или наличие ингибиторов в экстракте ДНК. В последнем случае тестирование экстракта ДНК в разведении 1:10 может улучшить характеристики амплификации. В случае неудачи начните полную процедуру с новой аликвоты образца.

- Положительный сигнал по крайней мере на 7 из 12 последовательных строк на полосе следует интерпретировать как возможно недействительный результат. Рекомендуется повторить всю процедуру, начиная с выделения ДНК для этого образца.

Если это произойдет во второй раз, это может быть истинным результатом генотипирования для определенных популяций, таких как люди с ослабленным иммунитетом, с множественными инфекциями\*.

(\* Как описано Уилером и др., 2006. Генотипы вируса папилломы человека и совокупный двухлетний риск предрака шейки матки. J Infect Dis. 2006; 194: 1291–1299).

Обобщенные результаты интерпретации полос:

**Таблица 1:** Обобщенные результаты интерпретации полос

| СС линия | hDNA Результат | HPV Результат                                 | Интерпретация                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------|----------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| -        | + или -        | + или -                                       | <b>Неверный результат</b><br>Отрицательный результат на контрольной линии конъюгата указывает на ошибку в проявлении цвета в анализе. Рекомендуется повторить анализ LiPA.                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| +        | -              | -                                             | <b>Правильный результат в случае отрицательного контроля образца</b><br><b>Недействительный результат в случае человеческого образца</b><br>Отрицательный результат на контрольной линии hDNA указывает на неадекватный сбор образцов, обработку или присутствие ингибиторов в экстракте ДНК. В последнем случае тестирование экстракта ДНК в разведении 1:10 может улучшить характеристики амплификации. В случае неудачи начните процедуру с новой аликвоты образца. |
| +        | +              | -                                             | <b>HPV не обнаружен</b><br>Отрицательный результат как для контрольных линий HPV, так и для типоспецифичных линий указывает на отсутствие ДНК HPV, но не может исключить наличие инфекции HPV.                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| +        | + или -        | +                                             | <b>Обнаружен HPV</b><br>Положительный результат по крайней мере на одной из типоспецифичных линий или контрольных линий HPV указывает на присутствие ДНК HPV. Нельзя полностью исключить наличие дополнительных генотипов HPV. Если в образце присутствует большое количество HPV, возможно, что контрольная линия ДНК человека будет отрицательной из-за конкуренции между HPV и ДНК человека.                                                                        |
| +        | + или -        | ≥ 7 из 12 последовательных строк положительны | <b>Не интерпретируемый Результат</b><br>Положительный сигнал по крайней мере на 7 из 12 последовательных строк на полосе следует интерпретировать как возможно недействительный результат. Рекомендуется повторить всю процедуру, начиная с выделения ДНК для этого образца. Если это произойдет во второй раз, это может быть истинным результатом генотипирования для определенных популяций, таких как люди с ослабленным иммунитетом, с множественными инфекциями. |

**Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS для LiPA HPV**

Программное обеспечение LiRAS для LiPA HPV разработано для помощи в интерпретации результатов INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II. Свяжитесь с вашим местным дистрибьютором для получения последней версии. Всегда сравнивайте образец полосы и информацию о пациенте, показанную в отчете, с исходной полосой, чтобы убедиться, что полоса была идентифицирована, выровнена и сканирована правильно.

**Ограничения процедуры**

- Использование этого продукта должно быть ограничено только персоналом, обученным методам гибридизации.
- Распространены инфекции смешанного генотипа HPV. В наборе INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Amp используется набор праймеров, которые амплифицируют все генотипы одновременно.
- Из-за конкуренции ПЦР и отсутствия определенных генотипов на полоске возможно, что определенные генотипы, присутствующие в образце с коинфекцией, не будут обнаружены.
- Если присутствует HPV52, может наблюдаться слабая неспецифическая реактивность на линии зонда HPV31 из-за гомологии последовательностей.
- Полиморфизм, хотя и встречается редко, может привести к ложноотрицательной или положительной реакции одной из зондов.

**Рекомендации по дизайну и процедурам лаборатории**

Рекомендуется следующая последовательность операций:

1. Приготовление и аликвотирование смесей для ПЦР.
2. Подготовка образцов (выделение ДНК).
3. Полимеразная цепная реакция.
4. Анализ биотинилированных продуктов ПЦР обратной гибридизацией.

Персонал, задействованный на этапах 3 и 4, не должен впоследствии участвовать в работе на этапах 1 и 2 в один и тот же день. Точно так же после того, как вы участвуете в шаге 2, не участвуйте в работе над шагом 1 в тот же день.

Чтобы предотвратить загрязнение (например, амплимером) образцов и избежать ложноположительных результатов, процедуру следует проводить в трех физически разделенных комнатах, каждая со своим набором расходных материалов и пипеток. Одна комната необходима для подготовки реагентов, другая - для пробоподготовки, а третья - для амплификации и обнаружения амплимеров. Все оборудование следует хранить в помещении, в котором оно используется, и не переносить его из одного помещения в другое.

Наконечники для пипеток, устойчивые к аэрозолям, следует использовать для предотвращения перекрестного загрязнения между образцами. По той же причине носите одноразовые смотровые перчатки и часто их меняйте.

**Помещение 1 - хранение и подготовка реагентов**

В этой комнате и в ее оборудовании не должно быть ДНК. Эта комната предназначена только для приготовления реагентов для ПЦР. Контрольную ПЦР не следует приносить в комнату 1. Персонал должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты. При работе с реагентами надевайте одноразовые перчатки.

## **Помещение 2 - подготовка проб**

В этой комнате и в ее оборудовании **не должно быть амплимеров**. Персонал, участвующий в обработке образцов, должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты. Во время подготовки пробы следует часто носить и менять одноразовые перчатки. Осторожно откройте пробирки, содержащие (обработанный) образец. Избегайте одновременного открытия более одного реакционного флакона с образцом.

Во избежание загрязнения или для очистки загрязненных поверхностей рекомендуется очищать пипетки и рабочие поверхности с помощью DNAZap (Ambion). Имейте в виду, что использование DNAZap является лишь дополнительной мерой предосторожности, и описанные рекомендации по дизайну и процедурам лаборатории следует выполнять как можно строже.

## **Комната 3 - усиление и обнаружение амплимеров**

Персонал, занимающийся амплификацией и обнаружением амплимеров, должен носить чистый лабораторный халат, который нельзя носить за пределами этой комнаты и который необходимо менять ежедневно. При работе с амплимером надевайте одноразовые смотровые перчатки.

## **Выполнение теста**

### **Инклюзивность**

Фрагменты SPF10 всех 32 генотипов HPV, присутствующих на полоске, клонировали в плазмиды и тестировали с помощью INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II. Все генотипы HPV специфически детектировались соответствующими зондами.

### **Соглашение с INNO-LiPA HPV Genotyping Extra**

Согласованность между INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II и INNO-LiPA HPV Genotyping Extra оценивали с использованием в общей сложности 150 Digene HC 2 ДНК-положительных суспензий цервикальных клеток высокого риска, собранных либо в Surepath (BD-Tripath), либо в консерванте ThinPrep PreservCyt Solution. Тесты проводились с использованием Auto-LiPA 48 и визуальной интерпретации. Все образцы имели достоверные результаты (150/150; 100%, односторонний 95% ДИ 98,2%).

Согласованность определялась как процент достоверных и интерпретируемых результатов LiPA с использованием образцов HC2 + в соответствии с эталонным методом INNO-LiPA HPV Genotyping Extra для общего анализа (HC2, LiPA Extra и LiPA Extra II) генотипов высокого риска. (= HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68). Таким образом, согласованный результат был определен как наличие по крайней мере одного из этих генотипов высокого риска в соответствии между новым анализом и эталонным методом.

Из всех 150 протестированных образцов 135 показали результат, соответствующий эталонному методу (135/150; 90%, односторонний 95% ДИ 85,2%).

В общей сложности 15 образцов дали противоречивые результаты.

- В 12 из этих образцов генотипы с высоким риском были обнаружены с помощью нового анализа, а не с помощью эталонного метода (образцы с высоким риском были определены как положительные по HC2). В 7 из этих образцов этими типами были HPV59 или 68. Такие противоречивые результаты были ожидаемы, так как улучшенная чувствительность среди прочего для этих генотипов была направлена на разработку нового теста.
- Два других образца были смешанными инфекциями, где вероятные генотипы высокого риска (HPV70 в одном случае, HPV53 и HPV82 в другом) были обнаружены как для нового анализа, так и для эталонного метода.

- Один оставшийся образец показал HPV68 в новом анализе и HPV51 в контрольном методе.

### **Программное обеспечение LiRAS для LiPA HPV**

Все 150 разработанных полосок из согласованного исследования были интерпретированы как визуально, так и с использованием программного обеспечения LiRAS для LiPA HPV v3.00. В этих образцах 143 образца показали точно совпадающий результат по генотипу (95,3%, односторонний 95% ДИ 91,6%). Несоответствующие генотипы в оставшихся 7 образцах имели значения оптической плотности, очень близкие к запрограммированному отсечению, за одним исключением линии зонда для HPV31 с OD 0,0305. Все 7 образцов были смешанными инфекциями, в которых был обнаружен хотя бы один генотип высокого риска с визуальной интерпретацией, а также с помощью программного обеспечения.

### **Точность**

Панель из 8 HPV-положительных образцов (5 одиночных инфекций, 3 множественных заражений) была протестирована в разные дни на 3 разных партиях 3 операторами с использованием разных автоматов.

(Авто-LiPA 48 и циклер для ПЦР).

Вся внесенная изменчивость привела к одинаковому результату теста во всех повторях образцов, за исключением одного образца, для которого в одном повторении был обнаружен дополнительный HPV16. Таким образом, точность составляет 111/112 (99,1%, односторонний 95% ДИ 96,1%).

### **Согласованность между суспензиями цервикальных клеток и образцами мочи с первым мочеиспусканием**

Согласие между образцами утренней мочи (FVU) с сохранением UCM и суспензиями цервикальных клеток на INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II было определено на 77 соединенных образцах суспензии клеток шейки матки с высоким или потенциально высоким риском и образцы утренней мочи, собранные с помощью устройства Colli-Pee. Эти образцы мочи были собраны одновременно с образцами шейки матки у женщин, направленных на кольпоскопию. Тесты были выполнены с использованием Auto-LiPA 48 и интерпретированы с использованием программного обеспечения LiRAS для LiPA HPV v3.01.

Согласованность - это процент совпадающих результатов с точки зрения (потенциальных) генотипов высокого риска от общего числа образцов. Согласующийся результат был определен как наличие по крайней мере одного из этих генотипов HPV с высоким или потенциально высоким риском в соответствии между двумя матрицами образцов.

Из 77 протестированных образцов 72 показали результат, соответствующий эталонному методу (72/77; 94%; односторонний 95% ДИ 87%).

### **Аналитическая чувствительность**

Предел обнаружения был определен для генотипов HPV 16, 18, 31, 33 и 45, представляющих пять наиболее распространенных генотипов высокого риска. Плазмидную ДНК в присутствии ДНК человека разводили (1/3) в диапазоне от 5000 копий на реакцию ПЦР до 0 копий на реакцию ПЦР. Каждое разведение тестировалось 8 раз.

Определение предела обнаружения как пробит-значение 95% (точечная оценка) было невозможно для HPV16, HPV18 и HPV31 из-за квази-полного разделения наблюдаемых данных. При анализе чувствительности, когда предполагалось, что одно наблюдение было отрицательным в точке, где впервые была получена полная положительность (8/8 заменено на 7/8), можно было рассчитать оценки пробит-значений. Очень низкий LoD был получен для HPV16 и HPV18 (верхний предел 95% ДИ составлял 6 копий / ПЦР) и более высокий LoD для HPV31, 33 и 45 (верхний предел 95% ДИ находился в диапазоне от 42 копий / ПЦР до 437 копий / ПЦР)

### **Товарные знаки**

- INNO-LiPA является товарным знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- LiRAS является товарным знаком Fujirebio Europe N.V. (ранее известная как Innogenetics N.V.), зарегистрированный в ЕС.
- Colli-Pee - торговая марка Новосанис.

КЛЮЧЕВОЙ КОД: **FRI27833**

INNO-LiPA CFTRiage

B32697 v1

10-12-2019

стр 1/28

На английском языке

|     |                                              |
|-----|----------------------------------------------|
| REF | 80577 INNO-LiPA CFTRiage Strips              |
| REF | 80596 INNO-LiPA CFTR OneAmp Kit              |
| REF | 80595 INNO-LiPA CFTR Buffer Kit              |
| REF | 80580 INNO-LiPA CFTR19 Strips                |
| REF | 80581 INNO-LiPA CFTR17 + Tn Strips           |
| REF | 80579 INNO-LiPA CFTR Italian Regional Strips |
| REF | 80578 INNO-LiPA CFTR Deletions + 6 Strips    |
| REF | 80582 INNO-LiPA CFTR Extra Strips            |



Производство:

Fujirebio Europe N.V.  
Technologierpark 6  
9052 г. Гент,  
Бельгия  
Тел. +32 9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent

«Обратите внимание на

выделенные цветом изменения»

Дистрибьюторы:

Fujirebio Europe N.V.  
Тел. +32 9 329 13 29  
Факс +32 9 329 19 11  
customer.support@fujirebio-europe.com

Fujirebio Italia S.r.l.

Тел. +39 06 965 28 700  
Факс +39 06 965 28 765  
[italy@fujirebio-europe.com](mailto:italy@fujirebio-europe.com)

Fujirebio Germany GmbH  
Тел. +49 511 857 3931  
Факс +49 511 857 3921  
germany@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.

Тел. +34 93 270 53 00  
Факс +34 93 270 53 17  
[spain@fujirebio-europe.com](mailto:spain@fujirebio-europe.com)

Fujirebio France SARL  
Тел. +33 1 69 07 48 34  
Факс +33 1 69 07 45 00  
france@fujirebio-europe.com

**Для получения информации на других языках посетите сайт:**



[www.e-labeling.eu/FRI27833](http://www.e-labeling.eu/FRI27833)

**+800 135 79 135**

00800 161 220 577 99  
800 8996  
8800 30728  
0800 895 084  
0800 606 287  
0800 142 064 866  
+31 20 796 5692  
+31 20 796 5693  
0800 0100 567  
0800 804 804

**ЕВРОПА**

Греция  
Исландия  
Литва  
Румыния  
Словакия  
Турция  
Лонг Айленд  
Монтана  
Новая Зеландия  
Хорватия

**+31 20 794 7071**

+1 855 236 0910  
+1 855 805 8539  
+800 135 79 135

**Необъединенная Европа**

США  
Канада  
Аргентина, Бразилия, Колумбия,  
Уругвай, Австралия, Новая  
Зеландия, Россия Бразилия

0800-5911055

© Fujirebio Europe N.V.

8:00 – 17:00 Среднее время  
по Гринвичу (GMT)+1

| Пн                                  | Вт                                  | Ср                                  | Чт                                  | Пт                                  | Сб                       | Вс                       |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                               |                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Используемые символы .....                                                                                                    | 2                                      |
| Предполагаемое использование .....                                                                                            | 3                                      |
| Принцип проведения теста .....                                                                                                | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| Реагенты .....                                                                                                                | 4                                      |
| <i>Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения</i> .....                                            | 4                                      |
| <i>Поставляемые реагенты</i> .....                                                                                            | 5                                      |
| Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы .....                                                                     | 5                                      |
| <i>Требуемые материалы для амплификации</i> .....                                                                             | 5                                      |
| <i>Требуемые материалы для ручной процедуры INNO-LiPA</i> .....                                                               | 6                                      |
| Замечания и меры предосторожности .....                                                                                       | 7                                      |
| Правила техники безопасности и охрана окружающей среды .....                                                                  | 7                                      |
| Сбор образцов, обращение и хранение .....                                                                                     | 8                                      |
| <i>Извлечение ДНК: с использованием цельной крови</i> .....                                                                   | 8                                      |
| <i>Извлечение ДНК: с помощью щечных щеток</i> .....                                                                           | 8                                      |
| <i>Извлечение ДНК: с использованием сухих пятен крови</i> .....                                                               | 9                                      |
| <i>Приготовление смеси для ПЦР</i> .....                                                                                      | 9                                      |
| <i>Цикл ПЦР</i> .....                                                                                                         | 9                                      |
| Сбор образцов LiPA, обращение и хранение LiPA .....                                                                           | 10                                     |
| <i>Процедура амплификационного теста</i> .....                                                                                | 10                                     |
| <i>Протокол амплификации с использованием ДНК из цельной крови, ДНК из щечных щеток или ДНК из засохших пятен крови</i> ..... | 10                                     |
| Результаты амплификации .....                                                                                                 | 11                                     |
| <i>Валидация</i> .....                                                                                                        | 11                                     |
| Процедура теста .....                                                                                                         | 11                                     |
| <i>Обработка полосы</i> .....                                                                                                 | 11                                     |
| <i>Инструкции по ручной инкубации</i> .....                                                                                   | 12                                     |
| <i>Инструкции по ручной замене жидкости в желобе</i> .....                                                                    | 12                                     |
| Ручная процедура тестирования LiPA .....                                                                                      | 12                                     |
| <i>Образцы</i> .....                                                                                                          | 12                                     |
| <i>Денатурация и гибридизация</i> .....                                                                                       | 12                                     |
| <i>Строгая промывка</i> .....                                                                                                 | 13                                     |
| <i>Цветовое проявление</i> .....                                                                                              | 13                                     |
| Автоматизированные процедуры тестирования .....                                                                               | 13                                     |
| Результаты LiPA .....                                                                                                         | 13                                     |
| <i>Чтение</i> .....                                                                                                           | 13                                     |
| <i>Валидация</i> .....                                                                                                        | 17                                     |
| <i>Интерпретация результатов</i> .....                                                                                        | 17                                     |
| Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS .....                                                                        | 23                                     |
| Ограничения процедуры тестирования .....                                                                                      | 23                                     |
| Производительность теста INNO-LiPA CFTRiage .....                                                                             | 24                                     |
| <i>Степень успеха</i> .....                                                                                                   | 24                                     |
| <i>Согласованность с эталонным тестом</i> .....                                                                               | 24                                     |
| <i>Реактивность зонда</i> .....                                                                                               | 24                                     |
| <i>Повторяемость, промежуточная точность и воспроизводимость</i> .....                                                        | 25                                     |
| Номенклатура .....                                                                                                            | 25                                     |
| Товарные знаки .....                                                                                                          | 28                                     |

## Используемые символы



Производитель

Медицинский прибор для диагностики в лабораторных условиях



Код партии

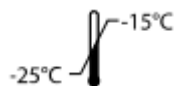
Номер по каталогу



Срок годности



Обратитесь за справкой к инструкциям по эксплуатации



Ограничение температуры



Биологические риски

Содержит достаточное количество для тестов  
<n>

LiPA

Набор LiPA

AMP KIT

Амплификационный набор

STRIPS

Полоски

AMPL BUF

Амплификационный буфер

PRIMER SOLN

Раствор праймера

CONJ 100x

Конъюгат 100x

CONJ DIL

Разбавитель конъюгата

DENAT SOLN

Раствор для денатурации

HYBRIDIZ SOLN

Раствор для гибридизации

RINSE SOLN 5x

Раствор для полоскания 5x

STRIN WASH SOLN

Строгий промывочный раствор

SUBS BCIP/NBT 100x

Субстрат BCIP/NBT 100x

SUBS BUF

Буферный субстрат

DANGER

Опасность

WARNING

Предупреждение

### Предполагаемое использование

INNO-LiPA CFTRiage - это линейный зондовый анализ, предназначенный для одновременного обнаружения и идентификации в лабораторных условиях 88 мутаций гена трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза человека (CFTR) и их последовательностей дикого типа в цельной крови человека, пятнах засохшей крови или щечных щетках.

Этот качественный тест на генотипирование предоставляет информацию для тестирования на носительство у взрослых репродуктивного возраста, может использоваться в качестве вспомогательного средства при скрининге новорожденных, а также в подтверждающем диагностическом тестировании. Он не показан для самостоятельной диагностики или пренатального скрининга.

В этом анализе используются реагенты для амплификации, предназначенные для мультиплексной амплификации нуклеиновых кислот 40 областей гена регулятора трансмембранной проводимости муковисцидоза (CFTR) (области для некоторых мутаций объединены) только в одной реакции. Реакцию проводят с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Анализ INNO-LiPA CFTRiage обеспечивает многопараметрический скрининговый тест на мутации гена CFTR и позволяет различать здоровых нормальных людей, здоровых носителей и больных.

### Принцип проведения теста

Анализ INNO-LiPA CFTRiage основан на принципе обратной гибридизации. Амплифицированный биотинилированный материал ДНК химически денатурируют, и разделенные цепи гибридизируют со специфическими олигонуклеотидными зондами, закрепленными в виде параллельных линий на полосках на основе мембраны. Затем следует этап строгой промывки для удаления любого несоответствующего амплифицированного материала. После строгой промывки добавляется стрептавидин, конъюгированный с щелочной фосфатазой, который связывается с любым ранее образованным биотинилированным гибридом. Инкубация с раствором субстрата, содержащим хромоген, приводит к образованию пурпурно-



коричневого осадка. Реакцию останавливают на этапе промывки, и образец реактивности зондов записывают с использованием LiRAS для лечения муковисцидоза.

Набор INNO-LiPA CFTR OneAmp Kit содержит один раствор праймера и буфер для амплификации для стандартизированного приготовления биотинилированного амплифицированного материала. Амплификация основана на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Образец ДНК, который нужно амплифицировать с помощью ПЦР, вводят в смесь реагентов, содержащую избыток дезоксинуклеозид-5'-трифосфатов, (dNTP), биотинилированные праймеры и ДНК-полимераза HotStarTaq. Праймеры позволяют специфически амплифицировать каждую из 40 областей гена CFTR (области для некоторых мутаций объединены).

При нагревании две цепи спирали ДНК разделяются (денатурация), чтобы подвергнуть целевые последовательности праймерам. Эти праймеры комплементарны областям, фланкирующим последовательность-мишень.

Следовательно, при охлаждении до определенной температуры праймеры будут связываться со своей целевой областью (отжиг).

При другой температуре и с использованием dNTP ДНК-полимераза HotStarTaq будет распространять отоженные праймеры вдоль целевой матрицы (удлинение). Таким образом, две точные биотинилированные копии матричных последовательностей получают после одного цикла денатурации, отжига и удлинения. После 30 циклов получают мультиамплифицированные биотинилированные целевые последовательности.

Затем продукты амплификации гибридизируют с пулами зондов, иммобилизованных на полосе LiPA CFTRiage. Когда минимальная одна объединенная линия зонда является положительной, должна последовать вторая реакция гибридизации на соответствующей подтверждающей полосе CFTR LiPA. В этом случае один и тот же ампликон LiPA CFTRiage можно повторно использовать для тестирования отдельных зондов, которые входят в положительный пул (а) из полоски LiPA CFTRiage. Чтобы еще больше сократить количество тестов LiPA CFTR, полоска LiPA CFTRiage содержит, помимо объединенных линий мутаций, серию из 12 отдельных линий мутаций и соответствующих линий дикого типа наиболее частых мутаций CFTR, не требуя дополнительного теста гибридизации. На рисунке 1 показан подход к тестированию анализа CFTRiage.

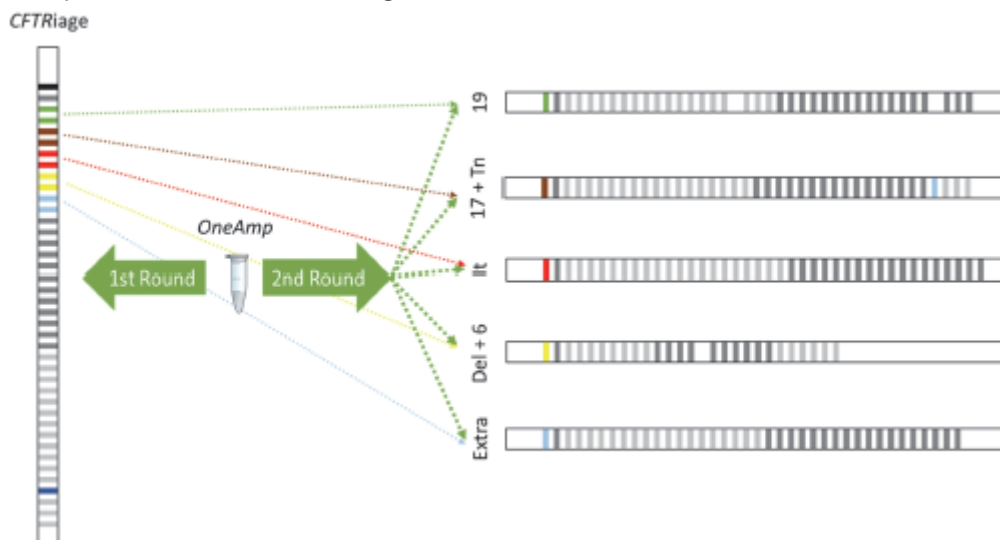


Рисунок 1: Подход к тесту CFTRiage: (возможно) положительные пулы в первой гибридизации (INNO-LiPA CFTRiage) указывают, какие анализы обратной гибридизации с отдельными олигонуклеотидными зондами необходимо провести во второй реакции гибридизации для завершения генетического анализа мутаций CFTR.

## Реагенты

### Описание, подготовка к использованию и рекомендуемые условия хранения

- Для полосок и буферных наборов, открытых или неоткрытых и хранящихся при 2–8 ° С в исходных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Не замораживайте реагенты. Не используйте реагенты после истечения срока годности. Все реагенты следует довести до комнатной температуры (20–25 ° С) примерно за 60 минут перед использованием и сразу же после использования вернуть в холодильник.
- Для набора OneAmp, если он хранится при -25 / -15 ° С и хранится в исходных флаконах, реагенты стабильны до истечения срока годности набора. Однако после первого использования рекомендуется аликвотировать реагенты, а затем хранить их при -25 / -15 ° С (допускается 4 цикла замораживания / оттаивания). Не используйте реагенты после истечения срока годности. Все реагенты (кроме HotStarTaq) должны быть доведены до комнатной температуры (20–25 ° С)

примерно за 60 минут до использования и должны быть возвращены в морозильную камеру сразу после использования.

- Наборы должны быть защищены от любого источника заражения ДНК, особенно от амплифицированных продуктов.
- Изменение внешнего вида компонентов набора может указывать на нестабильность или износ.
- Не смешивайте реагенты из разных наборов, если компоненты не имеют одинаковых номеров партий.
- Чтобы свести к минимуму вероятность скручивания полосок перед использованием, рекомендуется хранить тубу в горизонтальном положении.

### **Поставляемые реагенты**

| <b>Компонент<br/>INNO-LiPA CFTRiage<br/>Strips</b> | <b>Количество</b> | <b>Номер</b> | <b>Описание</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------|-------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полоски                                            | 1x20              | 58216        | Содержит 20 полосок INNO-LiPA CFTRiage, отмеченных черной маркерной линией вверху и синей маркерной линией чуть выше Тп-зондов.                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Набор INNO-LiPA<br/>CFTR OneAmp</b>             |                   |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Амплификационный буфер                             | 1x 0.30 мл        | 58275        | Содержит все dNTP и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Раствор праймера                                   | 1x 0.30 мл        | 58274        | Содержит биотинилированные праймеры для OneAmp, MgCl <sub>2</sub> и 0,05% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Буферный набор<br/>INNO-LiPA CFTR</b>           |                   |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Денатурационный раствор                            | 1x 1 мл           | 56718        | Щелочной раствор, содержащий ЭДТА. Этот флакон следует закрыть сразу после использования; продолжительное воздействие этого раствора на воздух приводит к быстрому ухудшению денатурирующей силы.                                                                                                                                              |
| Гибридизационный раствор                           | 1x 80 мл          | 55695        | Буфер SSC, содержащий 0,5% SDS, который необходимо предварительно нагреть до температуры не менее 37 ° C, но не выше 46 ° C. (Все кристаллы перед использованием следует растворить.)                                                                                                                                                          |
| Строгий промывочный раствор                        | 1x 200 мл         | 57220        | Буфер SSC, содержащий 0,1% SDS, предварительно нагреть до температуры не менее 37 ° C, но не выше 46 ° C. (Все кристаллы перед использованием следует растворить.)                                                                                                                                                                             |
| Конъюгат 100x                                      | 1x0,8 мл          | 56952        | Стрептавидин, меченный щелочной фосфатазой в Трис-буфере, содержащем белковые стабилизаторы и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консервантов. Приготовьте рабочий раствор конъюгата, разбавив 1/100 разбавителем конъюгата. Рабочий раствор конъюгата стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 ° C) при хранении в темноте. |
| Разбавитель конъюгата                              | 1x 80 мл          | 56951        | Фосфатный буфер с NaCl и детергентом. Содержит стабилизаторы белка и 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консервантов.                                                                                                                                                                                                                            |
| Субстрат BCIP/NBT 100x                             | 1x0,8 мл          | 56954        | BCIP и NBT в DMF. Приготовьте рабочий раствор субстрата, разбавив 1/100 буфера субстрата. Рабочий раствор субстрата стабилен в течение 24 часов при комнатной температуре (20-25 ° C) при хранении в темноте.                                                                                                                                  |
| Буферный субстрат                                  | 1x180 мл          | 56953        | Трис-буфер, содержащий NaCl и MgCl <sub>2</sub> . Содержит 0,01% MIT / <0,1% CAA в качестве консервантов                                                                                                                                                                                                                                       |
| Раствор для полоскания 5x                          | 1x 80 мл          | 56721        | Фосфатный буфер, содержащий NaCl и детергент. Содержит 0,05% MIT / 0,48% CAA в качестве консервантов. Перед использованием разведите 1/5 дистиллированной воды. Рабочий раствор для ополаскивания стабилен в течение 2 недель при 2-8 ° C.                                                                                                     |
| Подносы для инкубации                              | 3                 | -            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

| INNO-LiPA CFTRiage / B32697 v1 / KEY-CODE: <b>FRI27833</b>        |      |       |                                                                                                                                                                    | стр 6/12 |
|-------------------------------------------------------------------|------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Полоски INNO-LiPA CFTR19</b>                                   |      |       |                                                                                                                                                                    |          |
| Полоски                                                           | 1x20 | 57500 | Содержит 20 полосок INNO-LiPA CFTR19, отмеченных зеленой линией маркера                                                                                            |          |
| <b>Полоски INNO-LiPA CFTR17 + Tn Strips</b>                       |      |       |                                                                                                                                                                    |          |
| Полоски                                                           | 1x20 | 57499 | Содержит 20 полосок INNO-LiPA CFTR17 + Tn, отмеченных коричневой верхней линией маркера и второй синей линией маркера над зондами Tn для дополнительного ввода Tn. |          |
| <b>INNO-LiPA CFTR<br/>Итальянские<br/>региональные<br/>полосы</b> |      |       |                                                                                                                                                                    |          |
| Полоски                                                           | 1x10 | 58215 | Содержит 10 итальянских региональных полос INNO-LiPA CFTR, отмеченных красной маркерной линией                                                                     |          |
| <b>INNO-LiPA CFTR<br/>удаления + 6 полосок</b>                    |      |       |                                                                                                                                                                    |          |
| Полоски                                                           | 1x10 | 58211 | Содержит 10 удалений INNO-LiPA CFTR + 6 полосок, отмеченных желто-хромовой маркерной линией.                                                                       |          |
| <b>INNO-LiPA CFTR Extra<br/>Полоски</b>                           |      |       |                                                                                                                                                                    |          |
| Полоски                                                           | 1x10 | 58213 | Содержит 10 полосок INNO-LiPA CFTR Extra, отмеченных синей маркерной линией.                                                                                       |          |

#### **Требуемые, но не предусмотренные в наборе материалы**

- Одноразовые перчатки.
- Одноразовые стерильные наконечники для пипеток (желательно с ватными тампонами).
- Пипетки с одноразовыми наконечниками на 10 мкл, от 20 до 200 мкл и от 200 до 1000 мкл.
- Стерильные микропробирки.
- Штативы для микропробирок.
- Центрифуга для микропробирок.
- Автоклавированная дистиллированная вода.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Вихревой миксер или аналог.
- Шаблоны чтения.

#### **Требуемые материалы для амплификации**

- Термоциклер ДНК и оборудование.
- Пробирки для ПЦР MicroAmp (0,2 мл).
- ДНК-полимераза Qiagen HotStarTaq (рекомендуется использование ДНК-полимеразы Qiagen HotStarTaq, каталожный номер 203203). Могут использоваться и другие ДНК-полимеразы Taq, но перед использованием с анализом INNO-LiPA CFTRiage требуется внутренняя проверка.

#### **Требуемые материалы для ручной процедуры INNO-LiPA**

- Орбитальный, возвратно-поступательный или качающийся платформенный шейкер.

#### **Рекомендуемые настройки**

##### **Орбитальный шейкер:**

- диаметр кругового движения должен быть не менее 13 мм.
- рекомендуемая скорость для кругового движения 13 мм - 160 об / мин.

##### **Реципрокный шейкер:**

- Рекомендуемая скорость движения туда и обратно - 80 движений в минуту.

##### **Вибрационный платформенный шейкер:**

- угол встряхивания не должен превышать 13 ° во избежание проливания жидкости.
- рекомендуемая скорость 50 об / мин.
- Аппарат аспирационный.
- Градуированный термометр.
- Щипцы для работы с полосой.
- Градуированные цилиндры (10, 25, 50 и 100 мл).
- Таймер (2 часа ± 1 минута).
- Водяная баня с платформой для встряхивания (80 об / мин; наклонная крышка; температура регулируется минимум до 46 ° C ± 0,5 ° C).

**Дополнительные материалы:**

- Мультипипетка для дозирования (Multipipette, Eppendorf или аналог).
- Оборудование для автоматизации этапов обработки полосы. За подробностями обращайтесь к своему дистрибьютору.

**Замечания и меры предосторожности**

- Только для профессионального использования.
- Все наконечники пипеток и пробирки для процесса амплификации следует автоклавировать. Рекомендуются наконечники для пипеток с ватными пробками. Используйте только одноразовые лабораторные материалы.
- Используйте новый стерильный наконечник пипетки для каждой аликвоты образца.
- Чтобы предотвратить контаминацию ПЦР, максимально увеличьте физическое разделение стадий до и после амплификации. Не возвращайте образцы, оборудование или реагенты туда, где вы выполняли предыдущий шаг. Если вам нужно вернуться к предыдущей рабочей зоне, сначала выполните соответствующие шаги по дезинфекции.

**Информация о здоровье и безопасности****Правила техники безопасности и охрана окружающей среды**

Пожалуйста, обратитесь к паспорту безопасности (SDS) и этикетке продукта для получения информации о потенциально опасных компонентах. Самая последняя версия SDS доступна на веб-сайте [www.fujirebio-europe.com](http://www.fujirebio-europe.com).

|                                                                                     |                |                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Опасность      | <b>DENAT SOLN</b><br>Содержит гидроксид натрия<br>H314 P260 P280 P303 + P361 + P353 P305 + P351 + P338 P310 P363                                                                                                                                                       |
|  | Предупреждение | <b>RINSE SOLN 5x</b><br>Содержит 2-хлорацетамид<br>H317 P280 P261 P362 + P364 P333 + P313 P302 + P352                                                                                                                                                                  |
|  | Опасность      | <b>SUBS BCIP/NBT 100x</b><br>Содержит N, N-диметилформамид, 5,5'-дифенил-3,3'-бис-(4-нитрофенил)-2,2'-(3,3'-диметоксибифенил-4,4'-илен) дитетразолий дихлорид и метанол:<br>H312 + H332 H319 H360D<br>P261 P280 P201 P303 + P361 + P353 P305 + P351 + P338 P308 + P313 |
|                                                                                     |                | <b>SUBS BUF CONJ DIL CONJ 100x AMPL BUF</b><br>EUN210                                                                                                                                                                                                                  |

**Предупреждения об опасности**

H312+H332  
H314  
H317  
H319  
H360D  
EUN210

Вредно при контакте с кожей или при вдыхании.  
Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз.  
Может вызвать аллергическую кожную реакцию.  
Вызывает серьезное раздражение глаз.  
Может повредить будущему ребенку.  
Паспорт безопасности предоставляется по запросу.

**Меры предосторожности**

P201  
P260  
P261  
P280  
P302+P352

Перед использованием получить специальные инструкции.  
Не вдыхать туман / пары / аэрозоль.  
Избегайте вдыхания тумана / паров / аэрозолей.  
Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица. ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды / ...

P303+P361+P353

ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой [или принять душ].

P305+P351+P338

ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они есть, и это легко сделать. Продолжайте полоскание.

INNO-LiPA CFTRIage / B32697 v1 /  
P308+P313

P310

P333+P313  
P362+P364

P363

KEY-CODE: **FRI27833**

стр 8/12

В случае воздействия или обеспокоенности: обратиться за медицинской помощью / консультацией.

Немедленно позвоните в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР / к врачу /

...

При появлении раздражения кожи или сыпи: обратиться к врачу.

Снимите загрязненную одежду и постирайте ее перед повторным использованием.

Постирать загрязненную одежду перед повторным использованием.

- Только обученный персонал должен быть допущен к выполнению процедуры испытания.
  - Образцы всегда должны рассматриваться как потенциально инфекционные. С образцами всегда следует обращаться как с потенциально инфекционными. Следовательно, все компоненты крови и биологические материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и обращаться с ними как с таковыми. Все компоненты крови и биологические материалы следует утилизировать в соответствии с установленными процедурами безопасности.
  - Автоклав не менее 15 минут при 121 ° C.
  - Сжигайте одноразовый материал.
  - Смешайте жидкие отходы с гипохлоритом натрия так, чтобы конечная концентрация гипохлорита натрия составляла  $\pm 1\%$ . Перед утилизацией дайте постоять ночь.
- ВНИМАНИЕ:** Перед добавлением гипохлорита натрия нейтрализуйте жидкие отходы, содержащие кислоты.
- Необходимо использование средств индивидуальной защиты: при работе с опасными или инфекционными агентами надевайте перчатки и защитные очки.
  - С отходами следует обращаться в соответствии с инструкциями учреждения по утилизации отходов. Также необходимо соблюдать все федеральные, государственные и местные нормы по охране окружающей среды.

## Сбор образцов, обращение и хранение

INNO-LiPA CFTRIage можно проводить на цельной крови человека с EDTA, пятнах высушенной крови или щечных щетках.

Для цельной крови с ЭДТА храните образцы при 2-8 ° C перед выполнением экстракции ДНК. При хранении более одной недели заморозьте при -20 ° C или ниже.

В случае засохших пятен крови или щечных щеток храните образцы при 2-8 ° C до 1 недели до проведения экстракции ДНК.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Реагенты не входят в комплект.

### **Извлечение ДНК: с использованием цельной крови**

Для получения геномной ДНК из образцов цельной крови, подвергнутой антикоагуляции этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (например, QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (QIAGEN Cat. No. 51104), можно использовать общепринятые методы выделения ДНК с высаливанием или методы, основанные на спин-колонках. ).

Храните образцы ДНК при -25 / -15 ° C.

**Экстрагированная ДНК должна иметь концентрацию  $\pm 0,01$  мкг / мкл. INNO-LiPA CFTRIage валидирован для концентраций от 0,01 мкг / мкл до 0,3 мкг / мкл. Образцы можно разбавить ТЕ-буфером.**

**Чистота (A260 / A280) должна быть  $\pm 1,5$ .**

### **Извлечение ДНК: с помощью щечных щеток**

*Подготовка раствора*

1. 50 mM раствор NaOH:

- Растворите гранулы 0,2 г NaOH в 50 мл автоклавно-дистиллированной H<sub>2</sub>O. Отрегулируйте объем до 100 мл.

2. Буфер 1 M Трис-HCl pH 8,0:

- Растворите 12,11 г Триса в 50 мл автоклавно-дистиллированной H<sub>2</sub>O.

- Отрегулируйте pH до 8,0 с помощью 5 M HCl.

- Отрегулируйте объем до 100 мл.

**Протокол**

- Соберите буккальные клетки стерильной щеткой, вращая щеткой по внутренней стороне щеки в течение 30 секунд.
  - Немедленно приготовьте ДНК из клеток щеки или храните при комнатной температуре или 4 ° С.
  - Погрузите щетку в полипропиленовую микроцентрифужную пробирку, содержащую 600 мкл 50 мМ NaOH, и встряхните.
  - Нагрейте тубик с кистью до 95 ° С в течение 5 мин.
  - Осторожно снимите щетку.
  - Нейтрализуйте раствор ДНК с помощью 60 мкл 1М Трис pH 8,0 и перемешайте на вортексе.
  - После подготовки храните ДНК буккальных клеток при 2-8 ° С или -25 / -15 ° С.
- Мини-набор QIAamp DNA (50) (QIAGEN Cat. No. 51304) также можно использовать для экстракции ДНК, начиная с щечных щеток.
- Могут использоваться и другие методы экстракции, но перед использованием с анализом INNO-LiPA CFTRiage требуется внутренняя проверка.

**Выделение ДНК: с использованием сухих пятен крови****Приготовление растворов**

1. NaCl 10 мМ / ЭДТА 10 мМ:
  - Растворите 0,058 г NaCl + 0,372 г ЭДТА в 50 мл автоклавно-дистиллированной H<sub>2</sub>O. Отрегулируйте объем до 100 мл.
2. 50 мМ раствор NaOH:
  - Растворите гранулы 0,2 г NaOH в 50 мл автоклавированной дистиллированной воды.
  - Отрегулируйте объем до 100 мл.
3. Буфер 1М Трис-HCl pH 7,5:
  - Растворите 12,11 г Триса в 50 мл автоклавно-дистиллированной H<sub>2</sub>O.
  - Довести pH до 7,5 с помощью 5М HCl.
  - Отрегулируйте объем до 100 мл.

**Протокол**

- Соберите засохшие пятна крови, аккуратно нанеся несколько капель свежей крови, взятой пальцем, пяточной палочкой или нанесением ЭДТА-антикоагулированной цельной крови на специально изготовленную впитывающую (фильтровальную) бумагу для сбора образцов (были использованы карты фильтровальной бумаги Whatman 903 Protein saver) крови, которые дают возможность полностью пропитать бумагу и сушат на воздухе в течение минимум 3 часов, если ее не извлечь сразу.
  - Подготовьте ДНК немедленно или храните при комнатной температуре (в сухом и темном месте).
  - Высушите пятна крови в духовке при 80 ° С в течение 15–20 минут.
  - Вырежьте пуансоны диаметром 3 мм (использовался пуансон от S&S; Кат. № 10495010) из высушенного пятна крови. Поместите два вырезанных кружка из высушенного пятна крови в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл. Чтобы предотвратить перекрестное загрязнение образцов, промывайте пуансон и щипцы каждый раз после использования в этаноле и пламени.
  - Добавьте 1 мл 10 мМ NaCl / 10 мМ ЭДТА.
  - Взболтайте 20-30 минут в шейкере Eppendorf.
  - Удалите супернатанты.
  - Повторите эту операцию промывки 3 раза.
  - Отжать оставшийся промывочный буфер на низкой скорости и слить оставшиеся супернатанты.
  - Добавьте 150 мкл 50 мМ NaOH.
  - Нагревайте 10 минут в нагревательном блоке до 98 ° С.
  - Нейтрализовать 30 мкл Трис 1М pH 7,5.
  - Добавьте 20 мкл дистиллированной в автоклаве H<sub>2</sub>O (конечный объем 200 мкл).
  - После приготовления храните ДНК высушенных пятен крови при -25 / -15 ° С.
- Мини-набор QIAamp DNA Mini Kit (50) (QIAGEN Cat. No. 51304) также можно использовать для выделения ДНК, начиная с сухих пятен крови.
- Могут использоваться и другие методы экстракции, но перед использованием с анализом INNO-LiPA CFTRiage требуется внутренняя проверка.

**Приготовление смеси для ПЦР**

Каждый компонент должен быть добавлен и поставлен в нужном количестве. Слишком много или слишком мало образца или реагентов может привести к неспецифической амплификации или даже к отсутствию амплификации.

**Цикл ПЦР**

Необходимо выбрать правильный температурный режим для набора INNO-LiPA CFTR OneAmp .

**Сбор, обращение и хранение образцов LiPA***Процедура амплификационного теста***ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Этот протокол для мультиплексной амплификации 40-ка областей гена CFTR был разработан для оптимальной амплификации с использованием пробирок для ПЦР MicroAmp (0,2 мл), термоцикловеров GeneAmp PCR System 9700, HotStarTaq (Qiagen).
- Этот протокол может использоваться для большинства коммерческих типов термоциклеров, но может потребовать некоторых модификаций, указанных производителем циклера.
- Перед использованием определите, совместим ли протокол с термоциклером, используемым в вашей лаборатории. Перед использованием убедитесь, что термоциклер откалиброван.
- Примите необходимые меры предосторожности, чтобы избежать неспецифической амплификации и образования димеров праймеров, которые могут ухудшить результаты:
  - Предварительно нагрейте (95 ° C) нагревательный блок термоциклера перед тем, как вставить образцы, и сразу же после этого начните циклический процесс.
  - Коротко встряхните, чтобы перемешать и повернуть реагенты, прежде чем открывать флаконы.
- ДНК-полимераза HotStarTaq не предусмотрена.

*Протокол амплификации с использованием ДНК из цельной крови, ДНК из щечных щеток или ДНК из засохших пятен крови*

1. Определите количество пузырьков, которые нужно приготовить (N), как:

$N = \text{количество образцов ДНК} + 1$  (отрицательный контроль; без ДНК) + 1

Используя наконечники для пипеток с ватными пробками, приготовьте мастер-микс в автоклавированной пробирке на 1,5 мл:

|                  |                                                 |
|------------------|-------------------------------------------------|
| (N x 24,15 мкл)  | автоклавированная дистиллированная вода         |
| + (N x 10 мкл)   | Буфер для амплификации (с прозрачным колпачком) |
| + (N x 10 мкл)   | Раствор праймера (с желтым колпачком)           |
| + (N x 0,85 мкл) | HotStarTaq (N x 5 Ед / мкл)                     |

**ПРИМЕЧАНИЕ.** При использовании альтернативного источника фермента Taq убедитесь, что на реакцию добавляется 4,25 Ед., и при необходимости регулировка количества автоклавированной дистиллированной воды.

Общий объем этой смеси для амплификации теперь составляет (N x 45 мкл). Кратковременно перемешайте на вихревой смеси и перенесите 45 мкл этой мастер-смеси в автоклавированные пробирки для амплификации (N-1).

2. Внесите 5 мкл геномной ДНК. Добавьте 5 мкл дистиллированной воды (без ДНК) в пробирку для отрицательного контроля.

**ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не перемешивайте на вортексе и не смешивайте!
- Убедитесь, что смесь для амплификации находится на дне пробирки!

3. Поместите образцы в предварительно нагретый и откалиброванный термоблок (см. Инструкции производителя термоциклера). Запустите программу амплификации, разработанную для набора INNO-LiPA CFTR OneAmp.

Профиль набора INNO-LiPA CFTR OneAmp (тип циклера: PE-9700):

| Шаг                    | Температура | Время  |                                                                    |
|------------------------|-------------|--------|--------------------------------------------------------------------|
| 1. Денатурация         | 95°C        | 15 мин | см. инструкции, указанные производителем ДНК-полимеразы HotStarTaq |
| 2. Денатурация         | 95°C        | 1 мин  |                                                                    |
| 3. праймеры для отжига | 57°C        | 1 мин  | повторить шаг цикла с 2 по 4 30 раз                                |
| 4. продление праймеров | 68°C        | 1 мин  |                                                                    |
| 5. Удлинение           | 68°C        | 10 мин |                                                                    |
| 6. Удержание           | 4°C         |        |                                                                    |

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Для всех продуктов INNO-LiPA CFTR используется один и тот же профиль амплификации.

4. После процесса амплификации немедленно используйте амплифицированные образцы с полосками INNO-LiPA CFTRiage или храните при 2–8 ° C до 15 дней. При хранении более 15 дней заморозить при -25 / -15 ° C. Допускается многократное замораживание и оттаивание амплифицированных образцов до 5 раз.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Не храните продукты амплифицированной ДНК вместе с неиспользованными реагентами для амплификации.

**Результаты амплификации**

Длина амплифицированных областей и реагирующих зондов указана ниже.

|             |          | Probe lines |               |                |                   |               |             |                       |          |                    |       |            |       |
|-------------|----------|-------------|---------------|----------------|-------------------|---------------|-------------|-----------------------|----------|--------------------|-------|------------|-------|
|             |          | CFTRiage    |               | CFTR19         |                   | CFTR17        |             | CFTR Italian Regional |          | CFTR Deletions + 6 |       | CFTR Extra |       |
| HGVS Region | Length   | WT          | MT            | WT             | MT                | WT            | MT          | WT                    | MT       | WT                 | MT    | WT         | MT    |
| exon1       | Intron1  | 353         | 9             |                |                   |               |             |                       |          | 9                  |       | 19         | 1     |
| exon1       | Intron1  | 319         | 7             |                |                   |               |             |                       |          |                    | 1     |            |       |
| Intron1     | Intron3  | 130         | 33            |                | 8                 |               |             |                       |          |                    | 4     |            |       |
| Intron1     | Intron2  | 303         | 8             |                |                   |               |             |                       |          |                    | 3     |            |       |
| Intron1     | Intron2  | 290         | 21            | 27             |                   |               |             |                       |          | 10                 |       |            |       |
| Intron2     | Intron3  | 266         | 3,4           |                |                   | 21,28,32      | 4,11,15     |                       |          |                    |       |            |       |
| Intron1     | Intron3  | 340         | 7             |                |                   |               |             |                       |          |                    | 2     |            |       |
| Intron3     | Intron4  | 339         | 14,17         | 6,9,10,26,29   |                   | 18,25         | 1,8         | 38                    | 19       |                    |       | 20,21      | 2,3   |
| exon5       | Intron5  | 103         | 1,4,9         | 28             | 10                | 33            | 17          |                       |          |                    |       | 22         | 4     |
| Intron5     | Intron6  | 238         | 5,6,9,10      |                |                   |               |             | 24,38                 | 4,20     |                    |       | 23,24      | 5,6   |
| Intron6     | Intron7  | 430         | 6             |                |                   |               |             | 33                    | 13       |                    |       |            |       |
| Intron7     | exon8    | 286         | 3,4,5,6,9,10  |                |                   | 26,27,29      | 9,10,12     | 31,37,38              | 11,18,20 |                    |       | 25,26,27   | 7,8,9 |
| Intron8     | Intron9  | 466         | 5             |                |                   |               |             | 21                    | 1        |                    |       |            |       |
| Intron9     | Intron10 | 434         | 20            | 32,35,36,37    |                   | 30            | 13,34,35,36 |                       |          |                    |       |            |       |
| Intron10    | Intron11 | 360         | 1,5,7,8,10,11 | 20             | 1,9               |               |             | 28                    | 8        | 13,14              | 19,20 | 28         | 10    |
| Intron11    | Intron11 | 328         | 9             |                |                   |               |             |                       |          |                    |       | 29         | 11    |
| Intron11    | Intron12 | 378         | 12,13,18      | 1,2,6,24,25,30 | 21,24,25,26,31,37 | 2,5,6,7,13,19 |             | 32                    | 12       |                    |       |            |       |
| Intron12    | Intron12 | 278         | 10            |                |                   |               |             |                       |          |                    |       | 30         | 12    |
| Intron12    | Intron13 | 245         | 2,5,6,8       | 32             | 14                |               |             | 25,35                 | 5,15     | 15                 | 21    |            |       |
| exon14      | exon14   | 126         | 3,4,10        |                |                   | 20,31         | 3,14,16     |                       |          |                    |       | 31         | 13    |
| exon14      | Intron14 | 121         | 9             |                |                   |               |             |                       |          |                    |       | 32         | 14    |
| Intron15    | Intron20 | 365         | 7             |                |                   |               |             |                       |          | 5                  |       |            |       |

|             |          | Probe lines |              |          |          |         |     |                       |         |                    |       |            |       |
|-------------|----------|-------------|--------------|----------|----------|---------|-----|-----------------------|---------|--------------------|-------|------------|-------|
|             |          | CFTRiage    |              | CFTR19   |          | CFTR17  |     | CFTR Italian Regional |         | CFTR Deletions + 6 |       | CFTR Extra |       |
| HGVS Region | Length   | WT          | MT           | WT       | MT       | WT      | MT  | WT                    | MT      | WT                 | MT    | WT         | MT    |
| Intron15    | Intron16 | 277         | 19           | 31       |          | 22      | 5   |                       |         |                    |       |            |       |
| Intron16    | Intron17 | 312         | 22           | 7,10,34  |          |         |     |                       |         | 18                 | 24    | 33         | 15    |
| Intron17    | Intron18 | 420         | 2            | 36       | 18       |         |     |                       |         |                    |       |            |       |
| Intron18    | Intron21 | 306         | 8            |          |          |         |     |                       |         |                    | 6     |            |       |
| Intron18    | Intron19 | 434         | 1            | 35       | 17       |         |     |                       |         |                    |       |            |       |
| Intron19    | exon20   | 355         | 2            | 29       | 11       |         |     |                       |         |                    |       |            |       |
| exon20      | exon20   | 214         | 5,6,7,8,9,10 |          |          |         |     | 29,36                 | 9,16,17 | 11,16,17           | 22,23 | 34,35      | 16,17 |
| exon20      | Intron20 | 281         | 5,6,7,8,9,10 |          |          |         |     | 29,36                 | 9,16,17 | 11,16,17           | 22,23 | 34,35      | 16,17 |
| Intron20    | Intron21 | 286         | 6            |          |          |         |     | 34                    | 14      |                    |       |            |       |
| Intron21    | Intron22 | 372         | 3,4,6        |          |          | 23,24   | 6,7 | 30                    | 10      |                    |       |            |       |
| Intron22    | Intron22 | 386         | 4            |          |          | 19      | 2   |                       |         |                    |       |            |       |
| Intron22    | Intron23 | 430         | 16           | 1,2,5,28 | 23,30,33 | 4,12,15 |     | 26                    | 6       |                    |       |            |       |
| Intron23    | exon24   | 300         | 15           | 5        | 22,27    | 3       |     | 22                    | 2       |                    |       |            |       |
| Intron24    | Intron27 | 310         | 7            |          |          |         |     |                       |         |                    | 8     |            |       |
| Intron24    | exon25   | 267         | 5            |          |          |         |     | 27                    | 7       | 12                 |       |            |       |
| Intron25    | Intron26 | 174         | 10           |          |          |         |     |                       |         |                    |       | 36         | 18    |
| Intron26    | exon27   | 382         | 5            |          |          |         |     | 23                    | 3       |                    |       |            |       |
| Intron24    | Intron26 | 155         | 8            |          |          |         |     |                       |         | 7                  |       |            |       |

**Валидация**

Включайте по крайней мере один отрицательный контроль каждый раз, когда выполняется амплификация. Как и в случае с любой новой лабораторной процедурой, следует рассмотреть возможность включения положительных контролей и дополнительных отрицательных контролей до тех пор, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в возможности правильного выполнения процедуры испытания. Если желательно включение дополнительного положительного контроля, используйте заведомо положительный образец.

**Тестовая процедура****Обработка полосы**

- Полоски предназначены только для одноразового использования!
- Не трогайте полоски голыми руками; использовать чистые щипцы.
- Используйте карандаш для идентификации тест-полосок. Не используйте шариковые ручки и т. Д. Напишите идентификатор над линией маркера на полосках.
- Поместите тест-полоски в лотки покрытой мембраной вверх (эта сторона отмечена).



- На разных этапах инкубации тест-полоски всегда должны оставаться в одной и той же кормушке.
- Неиспользованные или проявленные полоски следует хранить вдали от яркого света и тепла.
- Перед интерпретацией, закрытием и хранением дайте проявленным полоскам полностью высохнуть.
- Развитые сухие полоски желательно хранить в темноте при комнатной температуре (20-25 ° C).
- Не используйте желоба повторно.

#### *Инструкции по ручной инкубации*

- Инкубация при  $46^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  во время гибридизации и строгая отмывка являются наиболее важными шагами во избежание ложноположительных (слишком низкая температура) или ложноотрицательных / очень слабых сигналов (слишком высокая температура). Водяная баня со встряхиванием и наклонной крышкой позволяет хорошо контролировать колебания температуры. Необходим строгий контроль температуры с помощью калиброванного термометра.
- Всегда закрывайте крышку водяной бани во время инкубации, чтобы избежать ложноположительных сигналов.
- Не используйте шейкер с горячим воздухом для гибридизации и строгой промывки.
- Для гибридизации и строгой промывки, желоба следует поместить на платформу для встряхивания водяной бани. Отрегулируйте уровень воды от 1/3 до 1/2 высоты желоба. Убедитесь, что желоба не плавают по воде. Вода должна напрямую контактировать с желобами. Вода должна напрямую контактировать с желобами.
- Шаг инкубации для развития окраски должен составлять от 20 до 25 ° C. Если температура ниже 20 ° C, могут быть получены более слабые результаты. Если температура выше 25 ° C, могут быть получены высокий фон и / или ложноположительные сигналы.
- Амплитуда движения, создаваемого встряхиванием водяной бани (процедура гибридизации) и встряхивателем (процедура проявления цвета), имеет решающее значение для достижения максимальной чувствительности и однородного окрашивания. Поверхность полосы должна быть полностью погружена в воду. Амплитуда должна быть как можно большей и такой, чтобы и жидкость, и тест-полоски двигались вперед и назад в желобе. Однако следует избегать проливания жидкости за края желобов! Это может привести к перекрестному заражению и недействительным результатам.
- Не закрывайте лоток. Во время гибридизации и инкубации в условиях строгой отмывки желоба можно оставить открытыми на водяной бане. Закрытие лотков герметиком для микропланшетов может вызвать перекрестное загрязнение.

#### *Инструкции по ручной замене жидкости в желобе*

- Жидкость отсасывается из лотка с помощью пипетки, предпочтительно присоединенной к вакуумному аспиратору. Поднос держится под углом, чтобы вся жидкость стекала к одному концу желоба.
- Добавьте по 2 мл соответствующего раствора в каждую кювету и следуйте процедуре теста. Для этой цели можно использовать дозирующую мультипипетку (Eppendorf).
- Повторите этот шаг столько раз, сколько указано в процедуре проверки.

#### **ПРИМЕЧАНИЕ:**

- Не позволяйте полоскам высыхать между двумя этапами.
- Следите за тем, чтобы не повредить поверхность полосок при аспирации. Удалите жидкость из верхней части полосы над линией маркера.
- Убедитесь, что вся полоска тщательно промыта, полностью погрузив ее в раствор.
- При необходимости отрегулируйте скорость шейкера.

#### **Ручная процедура тестирования LiPA**

**Перед инкубацией проверьте температуру ( $46^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) водяной бани с помощью откалиброванного термометра и при необходимости отрегулируйте температуру, прежде чем помещать лоток в водяную баню. Всегда закрывайте крышку.**

#### **Образцы**

Убедитесь, что добавлено ровно 10 мкл амплифицированного образца. Слишком много или слишком мало образца может привести к неверному результату набора.

#### **Денатурация и гибридизация**

1. Нагрейте водяную баню со встряхиванием до  $46^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Проверьте температуру с помощью калиброванного термометра и при необходимости отрегулируйте температуру. Не превышайте указанные температуры. Предварительно нагрейте гибридизационный раствор и жесткий промывочный раствор на водяной бане с температурой не менее  $37^{\circ}\text{C}$  и не превышающей  $46^{\circ}\text{C}$ . Перед употреблением перемешать. Все кристаллы должны раствориться.

2. С помощью пинцета удалите необходимое количество полосок INNO-LiPA CFTR из пробирки (одна полоска на тестовый образец). Включите полоску для холостого усиленного контрольного образца. Нанесите карандашом идентификационный номер над линией маркера на полосе.

3. Возьмите необходимое количество лотков (по одной на каждый образец) и поместите их в лоток.

4. Внесите пипеткой 10 мкл денатурационного раствора в верхний угол каждой ванны.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Закройте флакон сразу после использования.

5. Добавьте 10 мкл продукта, амплифицированного INNO-LiPA CFTR, и осторожно перемешайте с раствором для денатурации, пипетируя его вверх и вниз. Всегда используйте стерильные наконечники для пипеток. Дайте денатурации продолжаться в течение 5 минут при 20-25 ° С.

6. Встряхните предварительно нагретый раствор для гибридизации и осторожно добавьте 2 мл денатурированного амплифицированного продукта в каждую лунку. Смешайте легким встряхиванием. Будьте осторожны, чтобы не загрязнить соседние лотки во время дозирования.

7. Немедленно поместите полоску маркированной стороной вверх в желоб. Полоски должны быть полностью погружены в раствор.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Используйте одноразовые перчатки и щипцы.

8. Поместите лоток в водяную баню со встряхиванием 46 ° С ± 0,5 ° С (80 об / мин; см. «Инструкции по ручной инкубации»), закройте крышку и инкубируйте в течение 90 минут.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Избегайте попадания воды из водяной бани в корыто. Установите уровень воды в пределах от 1/3 до 1/2 высоты желоба. Чтобы лоток не соскользнул, зафиксируйте лоток между двумя тяжелыми грузами.

### **Строгая промывка**

1. После гибридизации снимите лоток с водяной бани.

2. Держите лоток под небольшим углом, чтобы жидкость скапливалась на одном конце лотка, над линией маркера на полосах, для облегчения удаления. Не повредите поверхность полосок. Избегайте разбрызгивания или переноса растворов между корытами. Отсосите жидкость из желоба с помощью пипетки, предпочтительно присоединенной к вакуумному аспиратору. Добавьте 2 мл предварительно подогретого раствора для мытья посуды в каждую ванночку и промойте, коротко покачивая лоток (10-20 секунд) при 20-25 ° С. Удалите раствор из каждой кормушки. Повторите этот короткий этап промывки один раз (см. Также «Инструкции по замене жидкости в желобах вручную»).

3. Наконец, аспирируйте раствор и инкубируйте каждую полоску в 2 мл предварительно нагретого жесткого промывочного раствора на водяной бане со встряхиванием при 46 ° С ± 0,5 ° С в течение 30 минут. Закройте крышку водяной бани.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Разбавьте концентрированный раствор для полоскания и конъюгируйте во время строгой промывки. См. «Реагенты».

### **Развитие цвета**

Все последующие инкубации проводят при 20-25 ° С на шейкере. Во время инкубации жидкость и тест-полоски должны перемещаться в лотке вперед и назад для однородного окрашивания.

1. Промойте каждую полоску дважды в течение 1 минуты, используя 2 мл рабочего раствора для ополаскивания (см. «Реагенты» и «Указания по замене жидкости в желобах»).

2. Добавьте по 2 мл рабочего раствора конъюгата (см. «Реагенты») в каждую чашу и инкубируйте в течение 30 минут, встряхивая лоток на шейкере.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Разведите раствор субстрата BCIP / NBT примерно за 10 минут до окончания инкубации конъюгата. См. «Реагенты».

3. Промойте каждую полоску дважды в течение 1 минуты, используя 2 мл рабочего раствора для ополаскивания, и еще раз промойте, используя 2 мл субстратного буфера.

4. Добавьте 2 мл разбавленного рабочего раствора субстрата (см. «Реагенты») в каждую чашу и инкубируйте в течение 30 минут, встряхивая лоток на шейкере.

5. Остановите проявление цвета, дважды промыв полоски в 2 мл дистиллированной воды, встряхивая лоток на шейкере не менее 3 минут.

6. Используя пинцет, извлеките полоски из желобов и поместите их на впитывающую бумагу. Дайте полоскам полностью высохнуть, прежде чем прикреплять их к шаблону для считывания и считывать результаты. Проявленные и высушенные полоски хранить в темноте.

### **Автоматизированные процедуры тестирования**

Инструменты и соответствующие протоколы доступны в Fujirebio Europe N.V. (см. [www.fujirebio-europe.com/automation](http://www.fujirebio-europe.com/automation)).

### **Результаты LiPA**

#### **Чтение**

Интерпретация полосок CFTR с помощью программного обеспечения LiRAS for Cystic Fibrosis является обязательной. Положение различных олигонуклеотидных зондов на разных полосках INNO-LiPA CFTR

показано ниже (от рисунка 2 до рисунка 7). Линия считается положительной, если в конце процедуры теста появляется прозрачная пурпурная / коричневая полоса.

На рисунке 2 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA CFTRiage.

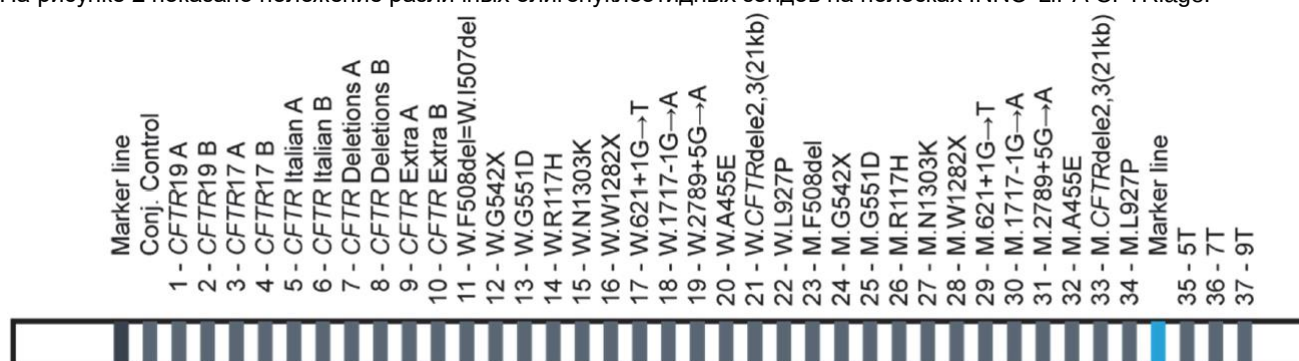


Рисунок 2: Расположение маркерных линий (черный и синий), контрольная линия конъюгата, 10 объединенных последовательностей зондов для мутаций (2 пула на полосу INNO-LiPA: INNO-LiPA CFTR19, INNO-LiPA CFTR17 + Tn, INNO-LiPA CFTR Italian Regional, INNO-LiPA CFTR Deletions + 6 и INNO-LiPA CFTR Extra) и 27 ДНК-зондов, специфичных для отдельных последовательностей, разделенных на 40 линий на полосе INNO-LiPA CFTRiage.

Содержание объединенных зондов, специфичных для мутаций последовательности

|   |          |                |   |                  |                    |
|---|----------|----------------|---|------------------|--------------------|
| 1 | CFTR19 A | M.3199del6     | 6 | CFTR Italian B   | M.R1158X           |
|   |          | M.711+1G→T     |   |                  | M.S549R(A→C)       |
|   |          | M.I507         |   |                  | M.991del5          |
|   |          | M.S1251N       |   |                  | M.D1152H           |
|   |          | M.R560T        |   |                  | M.1898+3A→G        |
|   |          | M.R553X        |   |                  | M.R1066H           |
| 2 | CFTR19 B | M.3120+1G→A    | 7 | CFTR Deletions A | M.T338I            |
|   |          | M.Q552X        |   |                  | M.R347H            |
|   |          | M.3905 insT    |   |                  | M.621+3A→G         |
|   |          | M.3272-26A→G   |   |                  | M.852del22         |
|   |          | M.1898+1G→A    |   |                  | M. del Ex1         |
| 3 | CFTR17 A | M.2183AA→G     | 8 | CFTR Deletions B | M. del Ex2(ins182) |
|   |          | M.2184delA     |   |                  | M. Ex22-24         |
|   |          | M.394delTT     |   |                  | M. Ex14b-17b       |
|   |          | M.G85E         |   |                  | M. 1706del17       |
|   |          | M.R1162X       |   |                  | M. R1066C          |
|   |          | M.R.347P       |   |                  | M. S912X           |
| 4 | CFTR17 B | M.R.334W       |   |                  | M. Ex17a-18        |
|   |          | M.1078delT     |   |                  | M. E585X           |
|   |          | M.3849+10kbC→T |   |                  | M. L1077P          |

|   |                |            |    |              |                 |
|---|----------------|------------|----|--------------|-----------------|
| 5 | CFTR Italian A | M.3659delC | 9  | CFTR Extra A | M. Ex22-23      |
|   |                | M.2143delT |    |              | M. del Ex2      |
|   |                | M.E60X     |    |              | M. 1677delTA    |
|   |                | M.711+5G→A |    |              | M.M1V           |
|   |                | M.1259insA |    |              | M.E92X          |
|   |                | M.4016insT |    |              | M.1716+18672A→G |
|   |                | M.4382delA |    |              | M.G178R         |
|   |                | M.E217G    |    |              | M.E822X         |
|   |                | M.D579G    |    |              | M.L206W         |
|   |                | M.G1244E   |    |              | M.I336K         |
|   |                | M.G1349D   |    |              | M.R352Q         |
|   |                | M.I502T    |    |              | M.M1101K        |
|   |                | M.L1065P   |    |              | M.1609delCA     |
|   |                | M.R1070Q   |    |              | M.D110E         |
|   |                | M.R334Q    |    |              | M.1811+1,6kbA→G |
|   |                |            | 10 | CFTR Extra B | M.2184insA      |
|   |                |            |    |              | M.712-1G→T      |
|   |                |            |    |              | M.Q890X         |
|   |                |            |    |              | M.Y1092X        |
|   |                |            |    |              | M.L346P         |
|   |                |            |    |              | M.4374+1G→A     |

На рисунке 3 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полосах INNO-LiPA CFTR19.

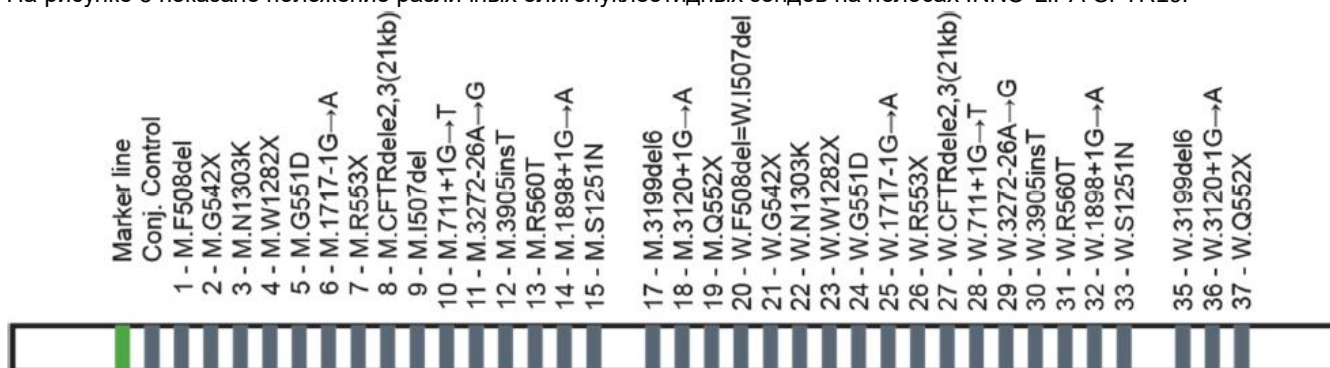


Рисунок 3: Расположение маркерной линии (зеленая линия), контрольной линии конъюгата и 35 ДНК-зондов, специфичных для последовательности, на полосах INNO-LiPA CFTR19.

На рисунке 4 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полосах INNO-LiPA CFTR17 + Tn.

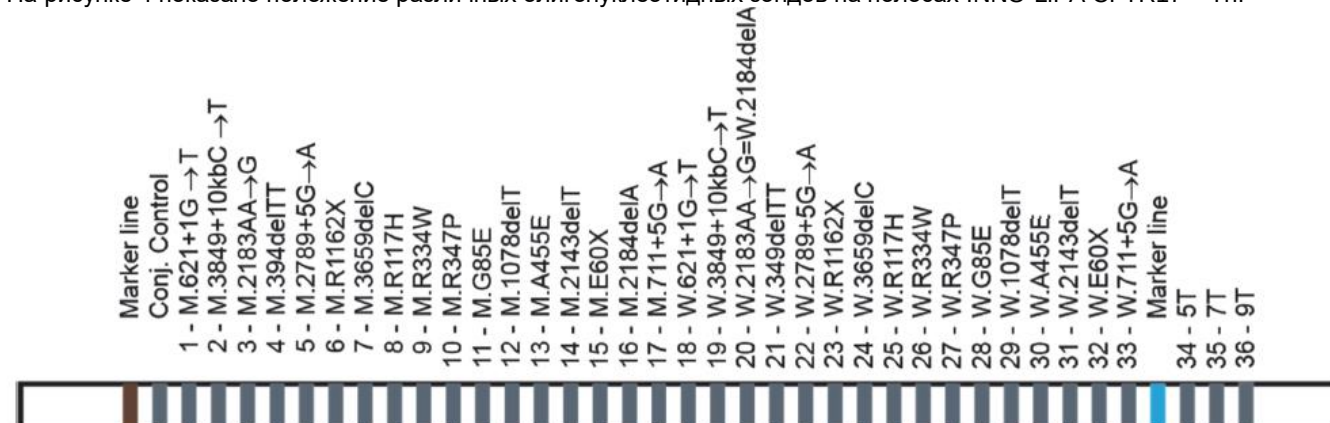




Рисунок 4: Расположение верхней линии маркера (коричневая линия), второй линии маркера (синяя линия) над зондами Tn, контрольной линией конъюгата и 36 зондами ДНК, специфичными для последовательности, на полосах INNO-LiPA CFTR17 + Tn.

На рисунке 5 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA CFTR Italian Regional.

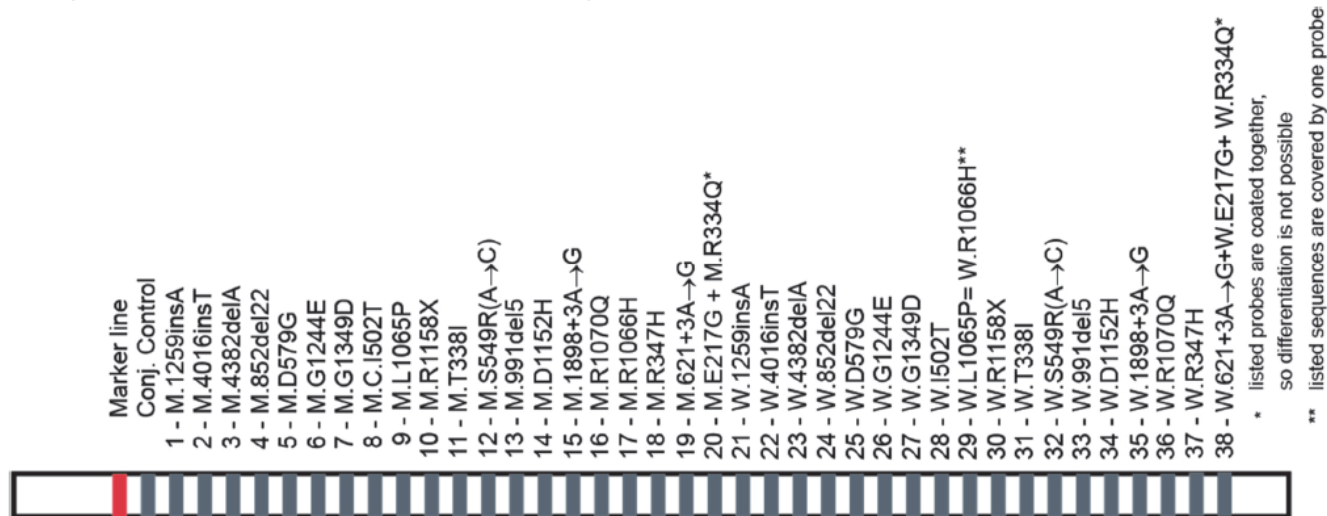


Рисунок 5: Расположение верхней маркерной линии (красная), контрольной линии конъюгата и 41 зонда, специфичного для последовательности ДНК разделены на 38 линий на итальянских региональных полосках INNO-LiPA CFTR.

На рисунке 6 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на 6 полосках INNO-LiPA CFTR Deletions + 6.

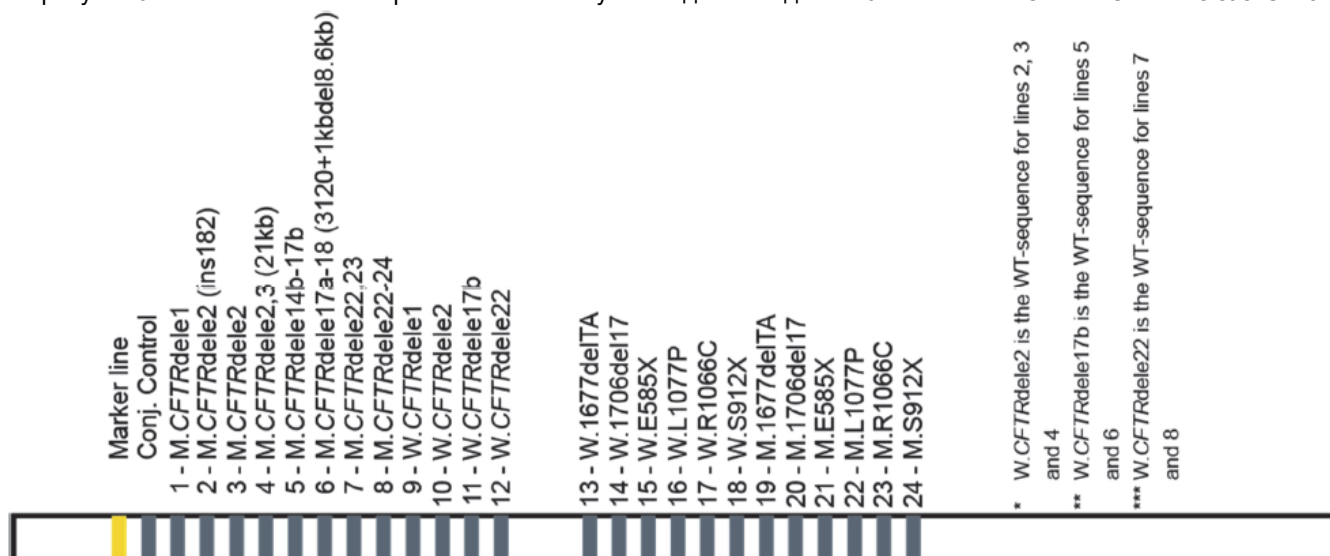


Рисунок 6: Расположение маркерной линии (хромово-желтый), контрольной линии конъюгата и 23 последовательностей ДНК зондов разделены на 24 линии на INNO-LiPA CFTR Deletions + 6 полосок.

На рисунке 7 показано положение различных олигонуклеотидных зондов на полосках INNO-LiPA CFTR Extra.

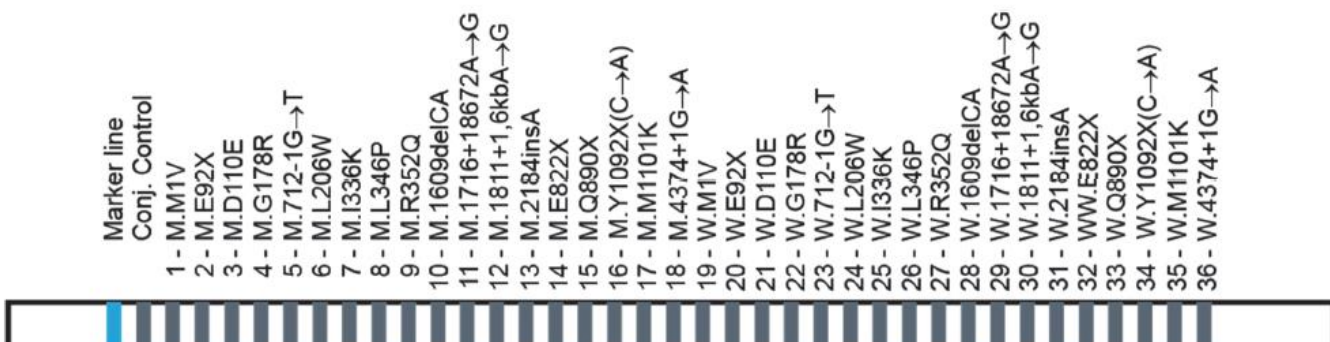


Рисунок 7: Расположение маркерной линии (синяя), контрольной линии конъюгата и 36 последовательностей ДНК-зондов, разделенных на более 36 строк на полосках INNO-LiPA CFTR Extra.

### Валидация

- Включайте один отрицательный усиленный контрольный образец каждый раз при проведении теста. Как и в случае любой новой процедуры тестирования, рекомендуется включение дополнительных

положительных и отрицательных контролей до тех пор, пока не будет достигнута высокая степень уверенности в способности правильно выполнить процедуру теста. Предлагается использовать эталонную ДНК для подтверждения того, что были установлены надлежащие условия тестирования.

- Самая верхняя линия на полосках INNO-LiPA CFTR - это линия маркера («черная» для полосок INNO-LiPA CFTRiage, «зеленая» для полосок INNO-LiPA CFTR19, «коричневая» для полос обновления INNO-LiPA CFTR17 + Tn, «Красный» для итальянских региональных полос INNO-LiPA CFTR, «хромово-желтый» для удаленных + 6 полосок INNO-LiPA CFTR и «синий» для дополнительных полос INNO-LiPA CFTR). Эта линия позволяет правильно ориентировать полосу.
- Следующая строка контролирует добавление реактивного конъюгата и рабочего раствора субстрата во время процедуры проявления цвета. Эта линия должна быть выровнена с маркерной линией шаблона для чтения. Эта линия всегда должна быть положительной и иметь примерно одинаковую интенсивность на каждой полоске в одном и том же тестовом прогоне.
- Результат сканирования каждого отрицательного усиленного контрольного образца должен давать отрицательный сигнал для любой из линий на полоске, за исключением контрольной линии конъюгата.
- Интенсивность цвета зондов на полосе может отличаться от одной линии к другой.

### **Интерпретация результатов**

- Интерпретация полосок CFTR с помощью программного обеспечения LiRAS for Cystic Fibrosis является обязательной.
- Сначала проверьте положительность контрольной линии конъюгата (первая строка после линии маркера), чтобы проверить каждую отдельную полосу (см. «Проверка»).
- Сопряженная контрольная линия, линия под самой верхней линией маркера должна быть выровнена с линией маркера шаблонов считывания.

### **Полоски INNO-LiPA CFTRiage**

Полоски INNO-LiPA CFTRiage содержат 10 объединенных зондов с последовательностью специфичных мутаций (2 пула на полосу INNO-LiPA), 12 зондов дикого типа (W.-типы) и 12 зондов мутантного типа (M.-типы) и 3 Tn пробников.

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех зондов, положительных на полосках INNO-LiPA CFTRiage.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа: наличие положительной линии означает, что либо последовательность W.-типа, либо последовательность M.-типа присутствует в одном или обоих аллелях. Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда M.-типа. Лица, гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа. Лица, гетерозиготные или комплексные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают положительный сигнал для соответствующих зондов W.- и M.-типа.
- Интерпретация собранных зондовых линий: когда минимальная одна объединенная зондовая линия положительна, должна последовать вторая реакция гибридизации на соответствующей подтверждающей полоске CFTR LiPA. В этом случае один и тот же ампликон LiPA CFTRiage можно повторно использовать для тестирования отдельных зондов, которые входят в положительный пул (а) из полоски LiPA CFTRiage.

### **Видимые aberrантные образцы реакции**

- Поскольку последовательности W.G551D, W.Q552X и W.R553X перекрываются, паттерны aberrантных реакций могут быть получены с образцами гомозиготных или сложных гетерозиготных пациентов, несущих эти мутации. Отрицательный W.G551D и положительный для или CFTR19 A, или CFTR19 B, или CFTR19 A, и CFTR19 B, или CFTR19 A, и M.G551D, или CFTR19 B и M. G551D.
- Случаи двух различных делеций, покрывающих экзон 2: отрицательная для W.CFTRdele2,3 (21kb) и положительная для или CFTR-делеций A или CFTR-делеций B или CFTR-делеций A и CFTR-делеций B или CFTR-делеций A и M. CFTRdele2,3 (21kb) или CFTR Deletions B и M.CFTRdele2,3 (21kb).
- Случаи образцов с делецией CFTRdele 14b-17b:  
Положительно для CFTR Deletions A и отрицательно для W.2789 + 5G → A и W.L927P  
Положительный результат на делеции CFTR A и M.L927P и отрицательный на W.L927P  
Положительный для CFTR Deletions A и M.2789 + 5G → A и отрицательный для W.2789 + 5G → A
- Поскольку W.F508del является последовательностью W.-типа для F508del, а также для I507del, гомозиготный образец пациента I507del (CFTR19 A) / I507del (CFTR19 A) или гетерозиготный F508del / I507del (CFTR19 A) не показывает сигнала с W Зонд типа F508del.

### *Полоски INNO-LiPA CFTR19*

Полоски INNO-LiPA CFTR19 содержат 17 зондов дикого типа (W.-типы) и 18 зондов мутантного типа (M.-типы). W.F508del = W.I507del представляет собой последовательность дикого типа для F508del и I507del.

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех зондов, положительных на полосках INNO-LiPA CFTR19.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа: наличие положительной линии означает, что либо последовательность W.-типа, либо последовательность M.-типа присутствует в одном или обоих аллелях. Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда M.-типа. Лица, гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа. Лица, гетерозиготные или комплексные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают положительный сигнал для соответствующих зондов W.- и M.-типа.
- Поскольку W.F508del представляет собой последовательность W.-типа для F508del, а также для I507del, образец пациента с гомозиготным I507del / I507del или гетерозиготным F508del / I507del не показывает сигнала с зондом F508del W.-типа.

### *Видимые aberrантные образцы реакции*

- Поскольку W.711 + 1G → T (присутствует на полосе INNO-LiPA CFTR19) является последовательностью W.-типа для 711 + 1G → T, а также для 711 + 5G → A (присутствует на INNO-LiPA CFTR17 + Tn strip), гомозиготный 711 + 1G → T / 711 + 1G → T, гомозиготный 711 + 5G → A / 711 + 5G → A или составной гетерозиготный 711 + 1G → T / 711 + 5G → образец пациента показывает нет сигнала с датчиком W.711 + 1G → T.
- Для гомозиготного образца пациента CFTRdele2,3 (21kb) / CFTRdele2,3 (21kb) нет сигнала с последовательностями экзона 3 W.-типа (W.E60X, W.G85E и W.394delTT) на INNO-LiPA CFTR17 + Tn, будет получено.
- Для составного гетерозиготного образца R560T / R560K сигнал датчика W.R560T получен не будет.
- Следующие другие редкие мутации CFTR были оценены на перекрестную реактивность и не были обнаружены с помощью теста INNO-LiPA CFTR19: I506V (экзон 10), 1717-8G → A (интрон 10), 1717-2A → G (интрон 10), R560K (экзон 11), W1282R (экзон 20) и R1283M (экзон 20). Кроме того, тестом не были обнаружены следующие полиморфизмы CFTR: F508C (1655T / G), I506M (1650C / G) и I507V (1651A / G).
- Перекрестная реактивность образца с мутацией I507del может наблюдаться на зонде M.F508del.
- Для гомозиготного образца M.W1282X, M.1717-1G → A или M.R560T перекрестная реактивность может наблюдаться на соответствующем зонде дикого типа.
- Перекрестная реактивность образца с полиморфизмом c.3762A → T может наблюдаться на зонде M.3905insT.
- Перекрестная реактивность наблюдалась для мутации R553G с зондом R553X.

### *Видимые паттерны aberrантной реакции для G551D, R553X и Q552X (рис.8)*

- Поскольку последовательности W.G551D, W.Q552X и W.R553X перекрываются, паттерны aberrантных реакций могут быть получены с образцами гомозиготных или сложных гетерозиготных пациентов, несущих эти мутации.

На рис. 8 показаны ожидаемые модели слабой или отрицательной реакции, наблюдаемые в некоторых случаях для зондов W.-типа в таких образцах. С учетом этих закономерностей правильная интерпретация все же возможна.

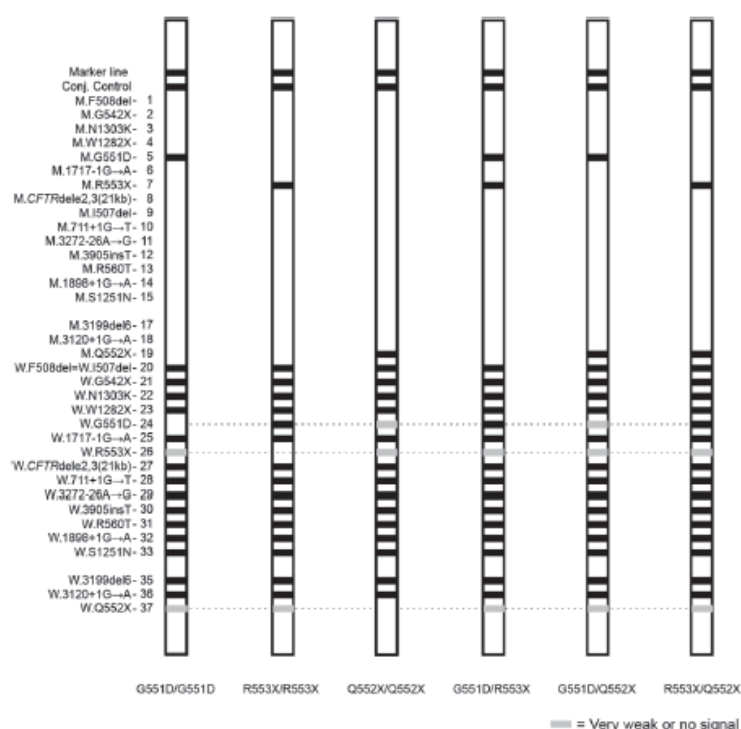


Рисунок 8: Ожидаемые паттерны aberrantной реакции с полосой INNO-LiPA CFTR19.

#### Полоски INNO-LiPA CFTR17 + Tn

Полоски INNO-LiPA CFTR17 + Tn содержат 16 зондов дикого типа (W.-типы), 17 зондов мутантного типа (M.-типы) и 3 зонда Tn. W.2183AA →G = W.2184delA представляет собой последовательность дикого типа для 2183AA →G и 2184delA.

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех зондов, положительных на полосе INNO-LiPA CFTR17 + Tn.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа: наличие положительной линии означает, что последовательность W.-типа или последовательность M.-типа присутствует в одном или обоих аллелях. Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда M.-типа. Лица, гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа. Лица, гетерозиготные или комплексные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают положительный сигнал для соответствующих зондов W.- и M.-типа.

- Интерпретация зондов Tn (необязательно): наличие положительной линии означает, что соответствующая последовательность Tn присутствует в одном или обоих аллелях. Лица, гомозиготные по определенному аллелю Tn, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда Tn.
- При обнаружении R117H также следует установить статус T5 или T7.

R117H можно найти в странах СНГ с T5 или T7. R117H-T5 рассматривается как комплексный аллель, вызывающий умеренный CF; тогда как R117H-T7 более вероятно рассматривается как мутация расстройства, связанного с CFTR.

При обнаружении в сложной гетерозиготности с мутацией, вызывающей CF, или, возможно, даже в гомозиготности, R117H-T5 обычно приводит к достаточному для поджелудочной железы CF, в то время как R117H-T7 может приводить к легкой форме CF, обструктивной азооспермии или к отсутствию заболевания. (Castellani C, Cuppens H, Macek JR M et al. Консенсус по использованию и интерпретации анализа мутаций муковисцидоза в клинической практике. J. Cyst Fibros 2008; 7: 179-196). (Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA et al. Рекомендации по передовой практике молекулярно-генетической диагностики кистозного фиброза и заболеваний, связанных с CFTR - обновленные европейские рекомендации. Eur J Hum Genet 2008; 1-15)

Видимые паттерны отклоняющейся реакции



- Поскольку W.2183AA →G представляет собой последовательность W.-типа для 2183AA →G, а также для 2184delA, гомозиготной
- Образец пациента 2183AA→G / 2183AA →G, гомозиготный 2184delA / 2184delA или составной гетерозиготный 2183AA →G / 2184delA не показывает сигнала с зондом W.2183AA →G.
- Поскольку W.711 + 5G →A (присутствует на полосе INNO-LiPA CFTR17 + Tn) является последовательностью W.-типа для 711 + 5G →A, а также для 711 + 1G →T (присутствует на INNO-LiPA Полоса CFTR19), гомозиготный 711 + 1G →T / 711 + 1G →T, гомозиготный 711 + 5G →A / 711 + 5G →A или составной гетерозиготный образец пациента 711 + 1G →T / 711 + 5G →A показывает нет сигнала с датчиком W.711 + 5G →A.
- Для гомозиготного образца пациента CFTRdele2,3 (21kb) / CFTRdele2,3 (21kb) нет сигнала с последовательностями экзона 3 W.-типа (W.E60X, W.G85E и W.394delTT) на INNO-LiPA CFTR17 + Tn, будет получено.
- Следующие другие редкие мутации CFTR были оценены на перекрестную реактивность и не были обнаружены с помощью теста INNO-LiPA CFTR17 + Tn: 2184insA (экзон 13), 2789 + 3delG (интрон 14b), R347H (экзон 7), R117C (экзон 4), 621 + 2T →C (интрон 4) и 711 + 3A →G (интрон 5).
- Зонд W.R1162X не дает сигнала, если пациент гомозиготен по полиморфизму 3617G- → T.
- Слабая перекрестная реактивность 9T-зонда с идентифицированным (Kobler D, Modi H, Goldman B. Идентификация аллеля 11T в полипиримидиновом тракте интрона 8 гена CFTR. Genet Med 2006; 8: 125-8) и редкий 11T-аллель.
- Перекрестная реактивность наблюдалась для мутации R117P с зондом R117H.
- Для образца с гомозиготной мутацией E60X перекрестная реактивность может наблюдаться на соответствующем зонде дикого типа.

#### INNO-LiPA CFTR Итальянские региональные полосы

Итальянские региональные полосы INNO-LiPA CFTR содержат 20 зондов дикого типа (W.-типы) и 21 зонд мутантного типа (M.-типы). W.L1065P = W.R1066H представляет собой последовательность дикого типа для мутации L1065P и для мутации R1066H. M-зонд для мутации E217G (M.E217G) и для мутации R334Q (M.R334Q) оба покрыты одной линией (M.E217G + M.R.334Q). Также зонды W-типа для мутаций 621 + 3A → G, E217G и R334Q покрыты вместе (W.621 + 3A → G + W.E217G + W.R334Q).

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех положительных линий на итальянской региональной полосе INNO-LiPA CFTR.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа (за исключением зондов, покрытых вместе): наличие положительной линии означает, что либо последовательность W.-типа, либо последовательность M.-типа присутствует в один или оба аллеля. Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда M.-типа. Лица, гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа. Лица, гетерозиготные или составные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают (а) положительный сигнал (ы) для соответствующих зондов W.- и M.-типа.

Схема реакции на мутации, при которых зонды покрываются вместе:

Надпись N = нормальный аллель

X, Y = другие мутации, кроме 621 + 3A → G, E217G или R334Q

| Схема реакции для                             | Режим 1                                       | Режим 2                          | Режим 3                         | Режим 4                                                 |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 621+3A →G, E217G, R334Q                       |                                               |                                  |                                 |                                                         |
| Строка 19: M.621 + 3A → G                     | +                                             | +                                | -                               | -                                                       |
| Строка 20: M.E217G + M.R334Q                  | -                                             | +                                | -                               | +                                                       |
| Строка 38: W.621 + 3A → G + W.E217G + W.R334Q | +                                             | +                                | +                               | +                                                       |
| Возможные результаты                          | 621+3A→G/N<br>621+3A→G/621+3A→G<br>621+3A→G/X | 621+3A→G/E217G<br>621+3A→G/R334Q | N/N<br>N/X<br>X/X<br>X/Y<br>Y/Y | E217G/X<br>R334Q/X<br>E217G/R334Q<br>E217G/N<br>R334Q/N |

#### Видимые паттерны отклоняющейся реакции

- При тестировании холостого образца для линии зонда W.I502T может наблюдаться слабая ложноположительная реакция из-за перекрестной реактивности с праймером для экзона 22.
- Поскольку W.L1065P представляет собой последовательность W-типа для L1065P, а также для R1066H, гомозиготный R1066H / R1066H, гомозиготный L1065P / L1065P или составной гетерозиготный L1065P / R1066H образец пациента не показывает сигнала с W. L1065P = W.R1066H зонд.
- Для гомозиготного образца G576A не будет получен сигнал ни на мутанте D579G, ни на зонде дикого типа. Для составного гетерозиготного образца D579G / G576A сигнал с W.D579G получен не будет.
- Перекрестная реактивность наблюдалась для мутации с.4243-1G → A с мутантным зондом 4382delA.

#### INNO-LiPA CFTR удаления + 6 полосок

Делеции INNO-LiPA CFTR + 6 полосок содержат 10 зондов дикого типа (W.-типы) и 14 зондов мутантного типа (M.-типы). Полоса разделена на две части: верхняя часть покрывает 8 делеций с их 4 зондами дикого типа, нижняя часть покрывает 6 мутаций с их 6 зондами дикого типа соответственно. Каждый зонд для мутации или делеции (зонд, помеченный буквой «М») имеет аналог дикого типа (зонд, помеченный буквой «W»). Некоторые делеции / мутации имеют общий зонд-аналог дикого типа.

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех зондов, которые положительны на полоске INNO-LiPA CFTR Deletions +6
- В следующей таблице представлен обзор всех мутационных зондов вместе с их аналогами дикого типа.

Делеционные и мутационные зонды полосы INNO-LiPA CFTR Deletions + 6 вместе с их двойным зондом дикого типа, находящимся на той же полоске. Число в скобках указывает номер линии датчика на полосе.

Копия удаления / мутации                      Аналог дикого типа (линия зонда)  
(линия зонда)

|                          |                    |
|--------------------------|--------------------|
| M.CFTRdele1 (1)          | W.CFTRdele1 (9)    |
| M.CFTRdele2 (ins182) (2) |                    |
| M.CFTRdele2 (3)          | W.CFTRdele2 (10)   |
| M.CFTRdele2,3 (4)        |                    |
| M.CFTRdele14b-17b (5)    | W.CFTRdele17b (12) |
| M.CFTRdele17a-18 (6)     |                    |
| M.CFTRdele22,23 (7)      | W.CFTRdele22 (12)  |
| M.CFTRdele22-24 (8)      |                    |
| M.1677delTA (19)         | W.1677delTA (13)   |
| M.1706del17 (20)         | W.1706del17 (14)   |
| M.E585X (21)             | W.E585X (15)       |
| M.L1077P (22)            | W.L1077P (16)      |
| M.R1066C (23)            | W.R1066C (17)      |
| M.S912X (24)             | W.S912X (18)       |

#### Видимые паттерны отклоняющейся реакции

- Когда образец содержит редкую мутацию F1074L, было замечено, что зонд на M.L1077P может давать ложноположительный результат из-за перекрестной реактивности, вызванной близостью обеих мутаций.
- Определите все положительные линии на полосе INNO-LiPA CFTR Deletions + 6.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа: наличие положительной линии означает, что последовательность W.-типа или последовательность M.-типа присутствует в одном или обоих аллелях.

Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда.

Зонд типа M., гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего

Зонд W.-типа. Лица, гетерозиготные или составные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают (а) положительный сигнал (ы) для соответствующих зондов W.- и M.-типа.

Особые случаи для удаления INNO-LiPA CFTR + 6 полосок

- Лица, гетерозиготные по определенным мутациям, совместно использующие один и тот же зонд-аналог W.-типа, показывают положительные сигналы для обоих зондов M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа.

- Мутации L1077P и R1066C расположены в экзоне 17b. Таким образом, можно объяснить следующие частные случаи:

- Лица, гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по двум делециям 17b (M.CFTRdele14b-17b и M. CFTRdele17a-18), показывают (а) положительный сигнал (-ы) для (а) определенной делеции (-ий) 17b и являются отрицательными для общего аналога W.-типа, но также отрицательны для W.-типа W.L1077P. и W.R1066C.

- Индивидуумы, гетерозиготные по одной делеции 17b (M.CFTRdele14b-17b или M.CFTRdele17a-18) и мутации R1066C, демонстрируют положительные сигналы для M.-линии с делецией 17b и для M.R1066C, тогда как W.R1066C будет отрицательной.

- Поскольку W.CFTRdele17b и W.L1077P имеют одинаковую последовательность датчиков, можно объяснить следующие особые случаи:

- Лица, гетерозиготные по одной делеции 17b (M.CFTRdele14b-17b или M.CFTRdele17a-18) и мутации L1077P, демонстрируют положительные сигналы для M.-линии делеции 17b и для M.L1077P, в то время как оба аналога W.-типа отрицательны.

- Лица, гомозиготные по L1077P, показывают положительный сигнал для M.L1077P и отрицательные сигналы как для аналога W.-типа W.L1077P, так и для W.CFTRdele17b.

- Мутация S912X находится в экзоне 15. Таким образом, лица, гетерозиготные по делеции M.CFTRdele14b-17b и M.S912X, будут показывать положительные сигналы для обеих мутантных линий, тогда как линия W.S912X дикого типа будет отрицательной.

Все упомянутые выше особые случаи перечислены в следующих таблицах с указанием, что зонды M-типа являются положительными, а зонды W.-типа отрицательными.

Три случая двух разных делеций, покрывающих экзон 2

| Положительные мутации                       | Отрицательные дикие типы | Результаты                             |
|---------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|
| M.CFTRdele2 (ins182) (2)<br>M.CFTRdele2 (3) | W.CFTRdele2 (10)         | M.CFTRdele2 (ins182) / M.CFTRdele2     |
| M.CFTRdele2 ins (2)<br>M.CFTRdele2.3 (4)    | W.CFTRdele2 (10)         | M.CFTRdele2 (ins182)<br>/M.CFTRdele2,3 |
| M.CFTRdele2 (3)<br>M.CFTRdele2,3 (4)        | W.CFTRdele2 (10)         | M.CFTRdele2 / M.CFTRdele2,3            |

(номер линии датчика)

Один случай двух разных делеций, покрывающих экзон 22

| Положительные мутации                      | Отрицательные дикие типы | Результаты                        |
|--------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| M.CFTRdele22,23 (7)<br>M.CFTRdele22-24 (8) | W.CFTRdele22 (12)        | M.CFTRdele22,23 / M.CFTRdele22-24 |

(номер линии датчика)

Три случая двух делеций, покрывающих экзон 17b

| Положительные мутации                        | Отрицательные дикие типы                             | Результаты                               |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| M.CFTRdele14b-17b (5)                        | W.CFTRdele17b (11)<br>W.L1077P (16)<br>W.R1066C (17) | M.CFTRdele14b-17b /<br>M.CFTRdele14b-17b |
| M.CFTRdele17a-18 (6)                         | W.CFTRdele17b (11)<br>W.L1077P (16)<br>W.R1066C (17) | M.CFTRdele17a-18 / M.CFTRdele17a-18      |
| M.CFTRdele14b-17b (5)<br>M.CFTRdele7a-18 (6) | W.CFTRdele17b (11)<br>W.L1077P (16)<br>W.R1066C (17) | M.CFTRdele14b-17b /<br>M.CFTRdele17a-18  |

(номер линии датчика)

Четыре случая делеции, покрывающей экзон 17b, с дополнительной мутацией экзона 17b (L1077P, R1066C)

| Положительные мутации                  | Отрицательные дикие типы         | Результаты                   |
|----------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| M.CFTRdele14b-17b (5)<br>M.L1077P (22) | W.CFTRdele17b (11) W.L1077P (16) | M.CFTRdele14b-17b / M.L1077P |
| M.CFTRdele17a-18 (6)<br>M.L1077P (22)  | W.CFTRdele17b (11) W.L1077P (16) | M.CFTRdele17a-18 / M.L1077P  |
| M.CFTRdele14b-17b (5)<br>M.R1066C (23) | W.R1066C (17)                    | M.CFTRdele14b-17b / M.R1066C |
| M.CFTRdele17a-18 (6)<br>M.R1066C (23)  | W.R1066C (17)                    | M.CFTRdele17a-18 / M.L1077P  |

(номер линии датчика)

L1077P гомозиготный

| Положительные мутации | Отрицательные дикие типы         | Результаты          |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------|
| M.L1077P (22)         | W.CFTRdele17b (11) W.L1077P (16) | M.L1077P / M.L1077P |
|                       |                                  |                     |

(номер линии датчика)

Один случай делеции, покрывающей экзон 15, с дополнительной мутацией экзона 15 (S912X)

| Положительные мутации                 | Отрицательные дикие типы | Результаты                  |
|---------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| M.CFTRdele14b-17b (5)<br>M.S912X (24) | W.S912X (18)             | M.CFTRdele14b-17b / M.S912X |

(номер линии датчика)

#### INNO-LiPA CFTR дополнительные полоски

Дополнительные полоски INNO-LiPA CFTR содержат 18 зондов дикого типа (W.-типы) и 18 зондов мутантного типа (M.-типы).

Интерпретация LiRAS для кистозного фиброза LiPA будет действовать следующим образом для интерпретации полоски:

- Идентификация всех зондов, положительных на полосках INNO-LiPA CFTR Extra.
- Интерпретация зондов W.-типа и M.-типа: наличие положительной линии означает, что либо последовательность W.-типа, либо последовательность M.-типа присутствует в одном или обоих аллелях. Лица, гомозиготные по определенному аллелю W.-типа, демонстрируют положительный сигнал только для соответствующего зонда W.-типа, но не для соответствующего зонда M.-типа. Лица, гомозиготные по определенному аллелю M.-типа, показывают положительный сигнал только для соответствующего зонда M.-типа, но не для соответствующего зонда W.-типа. Лица, гетерозиготные или составные, гетерозиготные по (а) определенной мутации (ам), показывают (а) положительный сигнал (ы) для соответствующих зондов W.- и M.-типа.

Видимые паттерны отклоняющейся реакции

- Неспецифическая слабая реактивность мутантных линий M.1716 + 18672A → G и M.2184insA иногда наблюдалась из-за перекрестной реактивности с образцом последовательности дикого типа образца.
- Для гомозиготного образца R347P не будет получен сигнал ни на мутанте L346P, ни на зонде дикого типа. Для составного гетерозиготного образца L346P / R347P не будет получен сигнал от зонда W.L346P.
- Для гомозиготного образца M1T не будет получен сигнал ни от мутанта M1V, ни от зонда дикого типа. Для составного гетерозиготного образца M1V / M1T сигнал от зонда W.M1V получен не будет.

#### Программное обеспечение для интерпретации: LiRAS

Программное обеспечение LiRAS для кистозного фиброза LiPA разработано для помощи в интерпретации результатов LiPA. Пожалуйста, свяжитесь с вашим местным дистрибьютором, чтобы получить последнюю обновленную версию.

#### Ограничения процедуры тестирования

- Использование этого продукта должно быть ограничено только персоналом, обученным методам амплификации и гибридизации.

- Наличие ингибирования полимеразы (например, гепарином, гемоглобином) может привести к сбою амплификации.
- Порошок из одноразовых перчаток и гипохлорит натрия тормозят усиление.
- Только хорошая лабораторная практика и тщательное выполнение указанных процедур позволят провести специфическую гибридизацию и правильное типирование целевой ДНК.
- Неинтерпретируемый или неверный результат может возникнуть из-за наличия полиморфизмов CFTR или других редких мутаций CFTR в области нашего зонда или в 3'-части наших праймеров.
- Основываясь на частоте мутаций в глобальной популяции, гомозиготный результат для любой из мутаций в INNO-LiPA CFTR Italian Regional, INNO-LiPA CFTR Deletions + 6 и INNO-LiPA CFTR Extra считается очень редким. Поэтому рекомендуется повторить тест LiPA, начиная с экстракции. Если получен такой же результат, проверьте, не вызвана ли отрицательная реакция дикого типа делецией определенного экзона.
- Если образец показывает отрицательную линию зонда дикого типа из-за общей слабой реактивности, рекомендуется повторить тест LiPA, начиная с экстракции.
- Оптимальное выполнение этого теста требует надлежащего сбора и обращения с образцами.
- В случае составного гетерозиготного образца тест LiPA не может определить, находятся ли обнаруженные мутации на одной или двух хромосомах. Однако образцы родительской ДНК можно тестировать с INNO-LiPA CFTR, чтобы снизить риск неправильной интерпретации.
- Возможно, в образце присутствуют другие мутации, которые не включены в набор и поэтому не будут обнаружены.
- Очень чистая ДНК в концентрации, близкой к верхнему пределу диапазона применения, может привести к неспецифической реактивности.
- В редких случаях LiRAS не сможет интерпретировать полосы, появится следующее сообщение «Интерпретация невозможна. Пожалуйста, проведите дальнейшее расследование». В этом случае рекомендуется провести визуальный контроль дефектов ленты.

### Производительность теста INNO-LiPA CFTRiage

Производительность INNO-LiPA CFTRiage оценивалась на трех сторонних сайтах. В общей сложности было протестировано 324 образца: 110 образцов на участке 1, 114 образцов на участке 2 и 100 образцов на участке 3. ДНК ранее была извлечена из цельной крови с антикоагулянтом ЭДТА, взятой у пациентов с подозрением на MB, пациентов с MB, носителей MB, или здоровых людей, и хранили при 4 ° C, -20 ° C или -80 ° C в каждом внешнем месте.

Гибридизацию проводили с использованием прибора Auto-LiPA48 и Tendigo. Результаты интерпретировали с помощью LiRAS для LiPA Cystic Fibrosis v5.00.

### Степень успеха

Степень успеха INNO-LiPA CFTRiage выражали как количество положительных результатов (= успешно амплифицированный и интерпретируемый результат для INNO-LiPA) от общего числа протестированных образцов.

Общий уровень успеха составил 100,0% (324/324) (с 95% доверительным интервалом [99,2–100,0]) после первоначального тестирования.

### Согласование с эталонным тестом

Согласованность с эталонным тестом (INNO-LiPA CFTR17 + Tn, INNO-LiPA CFTR19, INNO-LiPA CFTR итальянский, INNO-LiPA CFTR Deletions + 6, INNO-LiPA CFTR Extra, MLPA, RT-PCR, хроматография и секвенирование) INNO-LiPA CFTRiage оценивался как количество правильно классифицированных генотипов CFTR по сравнению с альтернативными методами идентификации ДНК по общему количеству образцов с интерпретируемым результатом по INNO-LiPA.

Всего был получен 1 противоречивый результат между эталонным методом и анализом CFTRiage. Согласие 99,7% (323/324) между программной интерпретацией LiRAS для LiPA Cystic Fibrosis v5.00 результатов INNO-LiPA и эталонными результатами было получено во всех трех центрах с 95% доверительным интервалом [98,6–99,7].

### Реактивность зонда

Разработка анализа направлена на избежание перекрестной реактивности с другими мутациями или полиморфизмами в гене CFTR. Следующие мутации / полиморфизмы, обнаруженные в центрах, не показали перекрестной реактивности с зондами, присутствующими на полосках: 1113delTAAG, 1248 + 1G → A, 4015delA, 4374 + 13A → G, I1027T, R117C, 1341 + 18A → C, 186-13C → G, CFTRdele11, E1104X, L997F, 4006-4A → G, S912L и 2789-2insA. Однако для одного гетерозиготного образца перекрестная

реактивность наблюдалась для мутации с.4243-1G → A с итальянским пулом A зонда CFTR полосы INNO-LiPA CFTRiage и зондом M.4382delA региональной полосы INNO-LiPA CFTR в Италии.

Мутации, охваченные во время валидационного исследования, и количество протестированных образцов на мутацию перечислены ниже. В общей сложности 72 из 88 мутаций анализа INNO-LiPA CFTRiage были покрыты, что привело к охвату 81,8%.

| Мутация        | Протестировано | Мутация                         | Протестировано | Мутация | Протестировано | Мутация     | Протестировано |
|----------------|----------------|---------------------------------|----------------|---------|----------------|-------------|----------------|
| 1078delT       | 1              | 4016insT                        | 3              | E217G   | 0              | N1303K      | 9              |
| 1259insA       | 3              | 4374+1 G→A                      | 0              | E585X   | 3              | Q552X       | 3              |
| 1716+18627A→G  | 2              | 4382delA                        | 3              | E60X    | 1              | Q890X       | 0              |
| 1609delCA      | 1              | 621+1G→T                        | 4              | E822X   | 1              | R1066C      | 6              |
| 1677delTA      | 3              | 621+3A→G                        | 4              | E92X    | 0              | R1066H      | 0              |
| 1706del17      | 0              | 711+1G→T                        | 5              | F508del | 36             | R1070Q      | 3              |
| 1717-1G→A      | 10             | 711+5G→A                        | 3              | G1244E  | 4              | R1158X      | 1              |
| 1811+1,6kb A→G | 0              | 712-1G→T                        | 0              | G1349D  | 2              | R1162X      | 7              |
| 1898+1G→A      | 3              | 852del22                        | 3              | G178R   | 5              | R117H       | 10             |
| 1898+3A→G      | 1              | 991del5                         | 1              | G542X   | 8              | R334Q       | 2              |
| 2143delT       | 1              | A455E                           | 2              | G551D   | 4              | R334W       | 5              |
| 2183AA→G       | 7              | CFTRdele1                       | 1              | G85E    | 6              | R347H       | 3              |
| 2184delA       | 0              | CFTRdele14b-17b                 | 2              | I336K   | 0              | R347P       | 6              |
| 2184insA       | 8              | CFTRdele17a-18(3120+1kdel8.6kb) | 2              | I502T   | 0              | R352Q       | 5              |
| 2789+5G→A      | 9              | CFTRdele2                       | 0              | I507del | 6              | R553X       | 13             |
| 3120+1G→A      | 1              | CFTRdele2(ins182)               | 2              | L1065P  | 2              | R560T       | 1              |
| 3199del6       | 0              | CFTRdele2,3(21kb)               | 4              | L1077P  | 3              | S549R(A→C)  | 2              |
| 3272-26A→G     | 8              | CFTRdele22,23                   | 3              | L206W   | 5              | S1251N      | 5              |
| 3659delC       | 2              | CFTRdele22-24                   | 4              | L346P   | 0              | S912X       | 0              |
| 3849+10kbC→T   | 6              | D110E                           | 1              | L927P   | 1              | T338I       | 3              |
| 3905insT       | 0              | D1152H                          | 5              | M1101K  | 3              | W1282X      | 8              |
| 394delTT       | 2              | D579G                           | 2              | M1V     | 5              | Y1092X(C→A) | 6              |

### Повторяемость, промежуточная точность и воспроизводимость

Воспроизводимость, промежуточная точность и воспроизводимость INNO-LiPA CFTRiage оценивали путем тестирования панели воспроизводимости с тремя разными партиями, в дубликатах, разными операторами, в разные дни и на разных инструментах на двух сторонних площадках и внутри компании.

Для всех образцов результаты были одинаковыми для всех центров, серий, партий и операторов; приводя к воспроизводимости 100,0% с общим 95% доверительным интервалом [98,6–100,0].

### Номенклатура

| Устаревшая (традиционная) номенклатура | Номенклатура HGVS        |                  |
|----------------------------------------|--------------------------|------------------|
|                                        | Уровень ДНК              | Уровень протеина |
|                                        | Полоски INNO-LiPA CFTR19 |                  |
| F508del                                | с.1521_1523delCTT        | p.Phe508del      |
| G542X                                  | с.1624G→T                | p.Gly542*        |

|                    |                             |                          |
|--------------------|-----------------------------|--------------------------|
| N1303K             | c.3909C→G                   | p.Asn1303Lys             |
| W1282X             | c.3846G→A                   | p.Trp1282*               |
| G551D              | c.1652G→A                   | p.Gly551Asp              |
| 1717-1G→A          | c.1585-1G→A                 | p.?                      |
| R553X              | c.1657C→T                   | p.Arg553*                |
| CFTRdele2,3 (21kb) | c.54-5940_273+10250del21080 | p.Ser18fs                |
| I507del            | c.1519_1521delATC           | p.Ile507del              |
| 711+1G→T           | c.579+1G→T                  | p.?                      |
| 3272-26A→G         | c.3140-26A→G                | p.?                      |
| 3905insT           | c.3773_3774insT             | p.Leu1258fs              |
| R560T              | c.1679G→C                   | p.Arg560Thr              |
| 1898+1G→A          | c.1766+1G→A                 | p.?                      |
| S1251N             | c.3752G→A                   | p.Ser1251Asn             |
| 3199del6           | c.3067_3072delATAGTG        | p.Ile1023_Val1024de<br>l |
| 3120+1G→A          | c.2988+1G→A                 | p.?                      |
| Q552X              | c.1654C→T                   | p.Gln552*                |

**INNO-LiPA CFTR17 + Tn Полосы**

|              |                      |             |
|--------------|----------------------|-------------|
| 621+1G→T     | c.489+1G→T           | p.?         |
| 3849+10kbC→T | c.3717+12191C→T      | p.?         |
| 2183AA→G     | c.2051_2052delAAinsG | p.Lys684fs  |
| 394delTT     | c.262_263delTT       | p.Leu88fs   |
| 2789+5G→A    | c.2657+5G→A          | p.?         |
| R1162X       | c.3484C→T            | p.Arg1162*  |
| 3659delC     | c.3528delC           | p.Lys1177fs |
| R117H        | c.350G→A             | p.Arg117His |
| R334W        | c.1000C→T            | p.Arg334Trp |
| R347P        | c.1040G→C            | p.Arg347Pro |
| G85E         | c.254G→A             | p.Gly85Glu  |
| 1078delT     | c.948delT            | p.Phe316fs  |
| A455E        | c.1364C→A            | p.Ala455Glu |
| 2143delT     | c.2012delT           | p.Leu671*   |
| E60X         | c.178G→T             | p.Glu60*    |
| 2184delA     | c.2052delA           | p.Lys684fs  |
| 711+5G→A     | c.579+5G→A           | p.?         |
| 5T           | c.1210-12T[5]        | p.?         |
| 7T           | c.1210-12T[7]        | p.?         |
| 9T           | c.1210-12T[9]        | p.?         |

**INNO-LiPA CFTR Итальянские региональные полосы**

|          |                                    |              |
|----------|------------------------------------|--------------|
| 1259insA | c.1127_1128insA                    | p.Gln378fs   |
| 4016insT | c.3884_3885insT                    | p.Ser1297fs  |
| 4382delA | c.4251delA                         | p.Glu1418fs  |
| 852del22 | c.720_741delAGGGAGAATGATGATGAAGTAC | p.Gly241fs   |
| D579G    | c.1736A→G                          | p.Asp579Gly  |
| G1244E   | c.3731G→A                          | p.Gly1244Glu |



|                                            |                                                     |              |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------|
| G1349D                                     | c.4046G→A                                           | p.Gly1349Asp |
| I502T                                      | c.1505T→C                                           | p.Ile502Thr  |
| L1065P                                     | c.3194T→C                                           | p.Leu1065Pro |
| R1158X                                     | c.3472C→T                                           | p.Arg1158*   |
| T338I                                      | c.1013C→T                                           | p.Thr338Ile  |
| S549R(A→C)                                 | c.1645A→C                                           | p.Ser549Arg  |
| 991del5                                    | c.859_863delAACTT                                   | p.Asn287fs   |
| D1152H                                     | c.3454G→C                                           | p.Asp1152His |
| 1898+3A→G                                  | c.1766+3A→G                                         | p.?          |
| R1070Q                                     | c.3209G→A                                           | p.Arg1070Gln |
| R1066H                                     | c.3197G→A                                           | p.Arg1066His |
| R347H                                      | c.1040G→A                                           | p.Arg347His  |
| 621+3A→G                                   | c.489+3A→G                                          | p.?          |
| E217G                                      | c.650A→G                                            | p.Glu217Gly  |
| R334Q                                      | c.1001G→A                                           | p.Arg334Gln  |
| <b>INNO-LiPA CFTR удаления + 6 полосок</b> |                                                     |              |
| CFTRdele1                                  | c.4_53+69:del119ins53+4192_53+4489inv299insG        | p.?          |
| CFTRdele2(ins182)                          | c.54-5811_164+2186del8108ins273+6780_273+6961inv182 | p.?          |
| CFTRdele2                                  | c.54-1161_164+1603del2875                           | p.?          |
| CFTRdele2,3 (21kb)                         | c.54-5940_273+10250del21080                         | p.Ser18fs    |
| CFTRdele14b-17b                            | c.2620-674_3367+198del9858                          | p.?          |
| CFTRdele17a-18 (3120+1kbdel8.6kb)          | c.2988+1173_3468+2111del8899                        | p.?          |
| CFTRdele22,23                              | c.3964-78_4242+577del1532                           | p.?          |
| CFTRdele22-24                              | c.3964-3890_4443+3143del9454insTAACT                | p.?          |
| 1677delTA                                  | c.1545_1546delTA                                    | p.Tyr515*    |
| 1706del17                                  | c.1574_1590delAACTAGAAAGAGGACATC                    | p.Gln525fs   |
| E585X                                      | c.1753G→T                                           | p.Glu585*    |
| L1077P                                     | c.3230T→C                                           | p.Leu1077Pro |
| R1066C                                     | c.3196C→T                                           | p.Arg1066Cys |
| S912X                                      | c.2735C→A                                           | p.Ser912*    |

**INNO-LiPA CFTR дополнительные полоски**

|               |                  |                  |
|---------------|------------------|------------------|
| M1V           | c.1A→G           | p.Met1Val        |
| E92X          | c.274G→T         | p.Glu92*         |
| D110E         | c.330C→A         | p.Asp110Glu      |
| G178R         | c.532G→A         | p.Gly178Arg      |
| 712-1G→T      | c.580-1G→T       | p.?              |
| L206W         | c.617T→G         | p.Leu206Trp      |
| I336K         | c.1007T→A        | p.Ile336Lys      |
| L346P         | c.1037T→C        | p.Leu346Pro      |
| R352Q         | c.1055G→A        | p.Arg352Gln      |
| 1609delCA     | c.1477_1478delCA | p.Gln493Valfs*10 |
| 1716+18672A→G | c.1585-9412A→G*  | p.?              |
| 1811+1,6kbA→G | c.1680-886A→G    | p.?              |
| 2184insA      | c.2052_2053insA  | p.Gln685Thrfs*4  |
| E822X         | c.2464G→T        | p.Glu822*        |
| Q890X         | c.2668C→T        | p.Gln890*        |
| Y1092XC→A     | c.3276C→A        | p.Tyr1092*       |
| M1101K        | c.3302T→A        | p.Met1101Lys     |
| 4374+1G→A     | c.4242+1G→A      | p.?              |



**INNO-LiPA CFTRiage Полосы**

|       |                  |             |
|-------|------------------|-------------|
| L927P | <u>c.2780T→C</u> | p.Leu927Pro |
|-------|------------------|-------------|

\* Мутация 1716 + 18672A → G (с.1585-9412A → G в обозначении HGVS) также может обозначаться в обозначении HGVS как с. 1584 + 18672A → G в литературе.

**Товарные знаки**

- INNO-LiPA является товарным знаком Fujirebio Europe N.V., зарегистрированным в США и других странах.
- GeneAmp и MicroAmp являются зарегистрированными товарными знаками Applied Biosystems, LLC.
- Qiagen и HotStarTaq являются зарегистрированными товарными знаками QIAGEN Group.
- Eppendorf является зарегистрированным товарным знаком Eppendorf AG, DE.
- Whatman является зарегистрированным товарным знаком компании General Electric.