«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«__» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для дифференциального выявления ДНК вируса гепатита В, РНК вируса гепатита С
и РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов методом ПЦР/ОТ-ПЦР
в режиме реального времени
(РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для дифференциального выявления ДНК вируса гепатита В, РНК вируса гепатита С и РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов методом ПЦР/ОТ-ПЦР в режиме реального времени **«РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР»** предназначен для качественного дифференциального выявления ДНК вируса гепатита В (ВГВ), РНК вируса гепатита С (ВГС) и РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), выделенных из клинических образцов *(сыворотка или плазма крови с ЭДТА)* методом, основанным на амплификации фрагмента ДНК или кДНК *(полученной методом обратной транскрипции из РНК)* в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Набор может быть применён для скрининга доноров крови и её компонентов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранного специфического фрагмента ДНК или кДНК *(полученной методом обратной транскрипции из РНК)*, заключающегося в повторяющихся циклах: температурная денатурация, отжиг праймеров на комплементарные последовательности, достройка полинуклеотидных последовательностей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Дифференциальное выявление вирусных инфекций обеспечено независимой детекцией фрагментов генома вирусов гепатита В и С *(в ГРС-1)*, и фрагментов генома вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов *(в ГРС-2)*, за счёт флуорогенных специфичных зондов, детектируемых в разных каналах.

Ввиду высокого генетического разнообразия и высокой скорости возникновения мутаций для исследуемых патогенов для детекции целевой нуклеиновой кислоты вируса в реакционной смеси используется по два набора праймеров и зондов, специфичных к двум локусам генома: некодирующий концевой повтор *ltr* и фрагмент гена интегразы *int* для ВИЧ-1 и нетранслируемые концевые повторы 5`UTR и 3`UTR для ВГС. Для детекции целевой нуклеиновой кислоты ВГВ и ВИЧ-2 используются смеси праймеров и зондов, специфичных к одному высококонсервативному локусу генома: некодирующий концевой повтор *ltr* для ВИЧ-2 и фрагмент *S* гена для ВГВ.

Достоверность анализа контролируется по наличию положительного результата в **положительном контрольном образце (ПКО)**, который подвергается процедуре выделения НК вместе с анализируемыми клиническими образцами.

Учёт эффективности выделения НК из образцов обеспечивается выделением нуклеиновых кислот из клинических образцов совместно с **внутренним контрольным образцом (ВКО)**.

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

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) *Описание.*	**Количество**
Положительный контрольный образец (ПКО) *Лиофилизированный.*	1 флакон
Готовая реакционная смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР № 1 (ГРС-1) *Лиофилизированная*	48 пробирок
Готовая реакционная смесь для ОТ-ПЦР № 2 (ГРС-2) *Лиофилизированная*	48 пробирок
Раствор для восстановления контрольных образцов (РВК) *Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05%)*	1 флакон, 4 мл
Оптическая плёнка	1,5 листа
Пластиковая крышка	1 шт.
Вкладыш со штрих-кодом	1 шт.

2.3. Условия применения.

Аналитические и диагностические характеристики набора были валидированы при выделении НК из клинических образцов *(сыворотка и плазма крови с К2/К3-ЭДТА*) объёмом 0,25–1,0 мл и минипулов из 2–6 образцов общим объёмом 1,0 мл с использованием наборов: **«РеалБест ДельтаМаг ВГВ/ВГС/ВИЧ»** и **«РеалБест экстракция 1000»** производства **АО «Вектор-Бест».**

Набор применяется с регистрирующими амплификаторами планшетного типа с термоблоком для пробирок объёмом 0,2 мл и каналами детекции **«ROX»**, **«FAM»**, **«HEX»**: «CFX96», *(фирма «Bio-Rad», США); «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).*

Набор рассчитан на проведение анализа 48 образцов, включая контрольные образцы.

Показания к применению.

Набор реагентов используется для качественного дифференциального выявления ДНК вируса гепатита В (ВГВ), РНК вируса гепатита С (ВГС) и РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), выделенных из клинических образцов *(сыворотка или плазма крови с ЭДТА)* методом, основанным на амплификации фрагмента ДНК или кДНК *(полученной методом обратной транскрипции из РНК)* в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Набор может быть применён для скрининга доноров крови и её компонентов.

Противопоказаний к применению медицинского изделия нет *(не применимо)*.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность.

За аналитическую чувствительность принята величина концентрации целевой НК, для которой при экспериментальной проверке на двух сериях набора на 40 повторах для каждой серии и каждого из заявленных амплификаторов и наборов для выделения НК из 1 мл образца был получен положительный результат в 100% случаев.

Набор гарантированно выявляет ***(при выделении НК из 1 мл образца)***:

- ДНК ВГВ в концентрации 10 МЕ/мл;
- РНК ВГС в концентрации 15 МЕ/мл;
- РНК ВИЧ-1 в концентрации 30 МЕ/мл;
- РНК ВИЧ-2 в концентрации 50 МЕ/мл,

что подтверждается при выпуске каждой серии набора реагентов тестированием образцов, приготовленных из стандартных образцов предприятия, аттестованных относительно международных стандартов ВОЗ *(NIBSC коды: 10/266, 06/100, 16/194 и 08/150)*, с соответствующим содержанием ви-

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

русной НК.

Эффективность выявления различных генотипов ВГВ подтверждена анализом 1-й международной референсной панели ВОЗ генотипов ВГВ *(PEI код 5086/08, включает генотипы A, B, C, D, E, F, G)*, а также изолятов от российских пациентов, соответствующих генотипам A, C и D *(генотип определён секвенированием)*.

Эффективность выявления различных генотипов ВГС подтверждена анализом 2-ой панели генотипов РНК ВГС *(NIBSC код 08/264, включает генотипы 1a, 2b, 3a, 4a, 5 и 6a)*, а также изолятов от российских пациентов, соответствующих генотипам 1a, 1b, 2, 3, 4 и 6 (*генотип определён секвенированием)*.

Эффективность выявления различных субтипов ВИЧ-1 подтверждена анализом 2-й международной референсной панели ВОЗ субтипов ВИЧ-1 *(NIBSC код 12/224, включает субтипы A, B, C, D, CRF 01_AE, F, G, AG-GH и группы O и N)* и 1-й международной референсной панели ВОЗ циркулирующих рекомбинантных форм (CRF) ВИЧ-1 *(NIBSC код 13/214)*, а также изолятов от российских пациентов, соответствующих субтипам A, B, C и рекомбинантным формам CRF 02_AG, CRF 63_02A *(субтип определён секвенированием)*.

3.2. Аналитическая специфичность.

Аналитическая специфичность набора реагентов **«РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР»** обеспечивается использованием специфичных для генома каждого из вирусов ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2 праймеров и флуоресцентно меченых зондов, а также строгими условиями реакции. Праймеры и зонды проверены на наличие возможных гомологий со всеми доступными в базах данных нуклеотидными последовательностями, которые могут быть обнаружены в крови человека.

Аналитическая специфичность дифференциального выявления ДНК вируса гепатита B, РНК вируса гепатита C и РНК вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов была подтверждена отсутствием перекрёстных ложноположительных сигналов при анализе образцов плазмы, содержащих ДНК/РНК возбудителей других заболеваний *(вирус гепатита A, вирус гепатита D, вирус гепатита G, вирус клещевого энцефалита, парвовирус B19, аденовирусы человека, вирус ветряной оспы, вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус, вирус простого герпеса 1 типа, вирус простого герпеса 2 типа, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, вирус герпеса человека 6 типа, Borrelia burgdorferi, Borrelia miyamotoi)* в концентрации 10^6 – 10^7 копий на пробу.

Для проверки отсутствия интерференции между маркерами, определяемыми набором реагентов **«РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР»**, проводили для каждого маркёра анализ отрицательной плазмы и плазмы, содержащей этот маркёр в концентрации, равной аналитической чувствительности *(10 МЕ/мл для ДНК ВГВ, 15 МЕ/мл для РНК ВГС, 30 МЕ/мл для РНК ВИЧ-1 и 50 МЕ/мл для РНК ВИЧ-2)*, в которые были добавлены другие 3 маркера в концентрациях 10^8 МЕ/мл для ДНК ВГВ, РНК ВГС и РНК ВИЧ-1 и 10^7 МЕ/мл для РНК ВИЧ-2. Ни в одном случае не было выявлено влияния высоких концентраций нецелевых маркеров на правильность получаемых результатов.

3.3. **Диагностическая чувствительность дифференциального выявления ДНК ВГВ**: клинические испытания, проведённые на 70 положительных образцах, содержащих ДНК ВГВ, показали 100% чувствительность *(интервал 94,9%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

Диагностическая чувствительность дифференциального выявления РНК ВГС: клинические испытания, проведённые на 133 положительных образцах, содержащих РНК ВГС, показали 100% чувствительность *(интервал 97,3%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

Диагностическая чувствительность дифференциального выявления РНК ВИЧ-1: клинические испытания, проведённые на 110 положительных образцах, содержащих РНК ВИЧ-1, показали 100% чувствительность *(интервал 96,7%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

Диагностическая чувствительность дифференциального выявления РНК ВИЧ-2: клинические испытания, проведённые на 20 положительных образцах, содержащих РНК ВИЧ-2, показали 100% чувствительность *(интервал 83,2%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

3.4. **Диагностическая специфичность дифференциального выявления ДНК ВГВ**: клинические испытания, проведённые на 561 отрицательном образце, не содержащем ДНК ВГВ, показали 100% специфичность *(интервал 99,3%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

Диагностическая специфичность дифференциального выявления РНК ВГС: клинические испытания, проведённые на 489 отрицательных образцах, не содержащих РНК ВГС, показали 100% специфичность *(интервал 99,3%–100%, с доверительной вероятностью 95%)*.

Диагностическая специфичность дифференциального выявления РНК ВИЧ-1: клинические

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

испытания, проведённые на 526 отрицательных образцах, не содержащих РНК ВИЧ-1, показали 100% специфичность *(интервал 99,3%–100%, с доверительной вероятностью 95%).*

Диагностическая специфичность дифференциального выявления РНК ВИЧ-2: клинические испытания, проведённые на 51 отрицательном образце, не содержащем РНК ВИЧ-2, показали 100% специфичность *(интервал 93,0%–100 %, с доверительной вероятностью 95%).*

3.5. Измерение общей частоты ошибок системы, приводящих к ложноотрицательным результатам, было проведено тестированием слабоположительных образцов, приготовленных из 144 отрицательных образцов плазмы добавлением стандартных образцов предприятия ВГВ/ВГС/ВИЧ, аттестованных относительно международных стандартов, до концентраций, в 3 раза превышающих аналитическую чувствительность. Для всех 144 образцов был получен положительный результат *(ошибок, приводящих к ложноотрицательным результатам, не выявлено).*

3.6. Воспроизводимость результатов:

При тестировании в двух независимых постановках двумя разными операторами на двух сериях набора 4 образцов в 8 повторах каждый внутрипостановочная, внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость результатов составила 100%. Коэффициент вариации **Ct** не более 4%.

3.7. Потенциально интерферирующие вещества.

В клинических испытаниях показано отсутствие влияния потенциально интерферирующих веществ в образцах плазмы *(гемоглобина до 5 г/л, билирубина до 20 мг/дл, триглицеридов до 30 мг/мл, альбумина до 90 г/л, геномной ДНК человека до 4 мкг/мл)* на результаты анализа.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению НК возбудителей: ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике. К работе с набором допускается **только** специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получивший дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. по молекулярно-биологическим методам диагностики.

4.3. РВК содержит натрия азид в концентрации, указанной в п. 2.2 «Состав набора».

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения НК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

4.5. При работе с набором необходимо надевать **одноразовые** медицинские перчатки, использовать **только одноразовые** наконечники с фильтром для дозаторов.

4.6. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объёма, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (*такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова»; 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»*).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией *(см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).*

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым по-

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

мещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических *(профилактических)* мероприятий».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с детекцией флуоресценции в режиме реального времени планшетного типа *(с термоблоком для пробирок объёмом 0,2 мл и каналами детекции: «ROX», «FAM», «HEX»)*: «CFX96», *(фирма «Bio-Rad», США)*, «ДТпрайм» *(ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)*.
- бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) *(например, ЗАО «Ламинарные системы», Россия)*;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- встряхиватель для пробирок (*например, «Bio-Vortex V-1 plus», фирма «BioSan», Латвия);*
- мини-шейкер планшетный, обеспечивающий частоту вращения 1800 об/мин *(например, «BioShake iQ», фирма «Analytik Jena», Германия, или «MixMate», фирма «Eppendorf», Германия);*
- дозаторы одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками *(например, фирма «Biohit», Финляндия);*
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером *(например, фирма «Sartorius», Германия);*
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые *(например, перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);*
- штативы для микропробирок вместимостью 2 мл *(например, фирма «SSI», США);*
- контейнер для сбора отходов *(например, «Контейнер для сбора острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ»);*
- нож канцелярский или ножницы.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При проведении работ с клиническими образцами в лаборатории, включая процесс выделения НК из них, необходимо обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Для анализа используется НК, выделенная из клинических образцов: сыворотка крови, плазма крови *(полученная с использованием с К2/К3-ЭДТА в качестве антикоагулянта)* с использованием наборов: **«РеалБест ДельтаМаг ВГВ/ВГС/ВИЧ»** и **«РеалБест экстракция 1000»** производства **АО «Вектор-Бест»** согласно инструкции по применению соответствующего набора.

НК выделяется из индивидуальных образцов объёмом 0,25–1,0 мл или минипулов из 2-6 образцов общим объёмом 1,0 мл.

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения НК, должна содержать ПКО, который является компонентом данного набора, и **отрицательный контрольный образец (ОКО)**, который является компонентом набора для выделения.

Выделенную НК хранить при температуре (2–8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

6.2.1. Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС-1 и ГРС-2 в упаковке *(не вскрывая!)* при температуре (18–26) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа или ножниц отрезать необходимое количество *(по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: 1 ОКО и 1 ПКО)* пробирок с ГРС-1 и столько же с ГРС-2. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их плёнкой.

Внимание! *Неиспользованные пробирки с ГРС-1 и ГРС-2 упаковать в пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.*

После первого вскрытия упаковки ГРС-1 и ГРС-2 хранить при температуре (2–8) °С не более 3 месяцев.

6.2.2. Вскрыть флакон с ПКО, удалив пластиковую крышку и резиновую пробку. Снятые

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

крышку и пробку поместить в контейнер с дезинфицирующим раствором. Добавить **1 мл РВК**, плотно закрыть флакон новой пластиковой крышкой, входящей в состав набора. Аккуратно перемешать, выдержать при температуре (18–26) °С в течение 15 минут, после чего вновь тщательно перемешать.

После восстановления ПКО хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или аликвотами по 50 мкл при температуре минус (18–70) °С не более 3 месяцев.

После вскрытия флакона РВК хранить при температуре (2–8) °С не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество *(по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы)* пробирок с ГРС-1 и ГРС-2 пронумеровать *(если необходимо)* и расположить в штативе.

Внимание! ***Надписи следует располагать на боковой части пробирок.***

7.2. Аккуратно удалить плёнку, закрывающую пробирки.

Внимание! *При удалении плёнки следите, чтобы вместе с ней не была удалена ГРС.*

В каждую пробирку с ГРС-1 и ГРС-2 дозатором, используя для каждого образца индивидуальный наконечник с фильтром, внести по **50 мкл раствора выделенной НК**. Время от начала внесения в ГРС до запуска ПЦР должно быть не более 30 минут. Заклеить пробирки оптической плёнкой.

Внимание! *Нельзя наносить на оптическую плёнку какие-либо надписи. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!*

Поместить пробирки в мини-шейкер. Перемешать содержимое пробирок с частотой вращения 1800 об/мин в течение 1 минуты.

7.3. Поместить пробирки в амплификатор.

7.4. Запрограммировать прибор для проведения обратной транскрипции с последующей амплификацией специфических фрагментов: **кДНК/ДНК ВКО**, **ДНК ВГВ**, **кДНК ВГС**, **кДНК ВИЧ-1** и **кДНК ВИЧ-2** и детекции сигналов флуоресценции в соответствии с инструкцией к прибору.

Протокол проведения реакции:

1 стадия: 50 °С – 30 минут;

2 стадия: 94 °С – 1 минут;

3 стадия: 50 циклов *(94 °С – 10 секунд, 60 °С – 1 минута)*.*

**Измерение флуоресценции проводить при 60 °С.*

7.5. Выбрать каналы детекции результатов амплификации **кДНК/ДНК ВКО**, **ДНК ВГВ**, **кДНК ВГС**, **кДНК ВИЧ-1** и **кДНК ВИЧ-2:**

- **«FAM»** – для регистрации сигнала **кДНК/ДНК ВКО** в ГРС-1 и ГРС-2;
- **«ROX»** – для регистрации сигнала **ДНК ВГВ** в ГРС-1 и **кДНК ВИЧ-1** в ГРС-2;
- **«HEX»** – для регистрации сигнала **кДНК ВГС** в ГРС-1 и **кДНК ВИЧ-2** в ГРС-2.

7.6. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми образцами и контрольными образцами, согласно инструкции к используемому прибору.

7.7. Запустить амплификатор для выполнения заданного протокола.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов.

8.1.1. В **ПКО** программа должна фиксировать:

- нарастание сигнала амплификации **кДНК/ДНК ВКО** *(ГРС-1, ГРС-2, канал «FAM»)* и определять значение порогового цикла **Ct ВКО**;
- нарастание сигнала амплификации **ДНК ВГВ** *(ГРС-1, канал «ROX»)* и определять значение порогового цикла **Ct ПКО**;
- нарастание сигнала амплификации **кДНК ВГС** *(ГРС-1, канал «HEX»)* и определять значение порогового цикла **Ct ПКО**;
- нарастание сигнала амплификации **кДНК ВИЧ-1** *(ГРС-2, канал «ROX»)* и определять значение порогового цикла **Ct ПКО**;
- нарастание сигнала амплификации **кДНК ВИЧ-2** *(ГРС-2, канал «HEX»)* и определять значение порогового цикла **Ct ПКО**.

8.1.2. В **ОКО** программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации кДНК/ДНК ВКО *(канал «FAM»)* и определять **Ct** ВКО, при этом по каналам **«ROX»** и **«HEX»** программа не

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

должна регистрировать нарастания сигнала специфического продукта амплификации НК со значением **Ct меньше или равно 40**.

Если для ОКО значение **Ct** по каналам **«ROX»** и/или **«HEX» меньше или равно 40**, то это свидетельствует о наличии контаминации *(см. п. 8.2.5)*.

8.1.3. В **каждом исследуемом образце** программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации кДНК/ДНК ВКО *(канал «FAM»)* и определять **Ct** ВКО.

8.2. Учёт результатов.

8.2.1. Вычислить для каждой ГРС $(Ct\ ВКО)_{ср}$ как среднее значение **Ct** ВКО всех анализируемых образцов *(включая ПКО и ОКО)*. Отбраковке подлежат значения **Ct В**КО, отличающиеся более чем на 2 от значения $(\mathbf{Ct}\ ВКО)_{ср}$. После отбраковки пересчитать $(\mathbf{Ct}\ ВКО)_{ср}$ для оставшихся значений.

8.2.2. Анализируемый образец считается **отрицательным** *(не содержащим ДНК ВГВ, РНК ВГС, ВИЧ-1, ВИЧ-2)*, если для этого образца значение **Ct** по каналам **«ROX»** и **«HEX» не определяется.**

Если для такого образца значение **Ct** ВКО превышает значение $(\mathbf{Ct}\ ВКО)_{ср.}$ более чем на 2, то результат по данному образцу не подлежит анализу и учёту как отрицательный. Необходимо провести повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения НК.

8.2.3. Анализируемый образец считается **положительным** *(содержащим ДНК ВГВ)*, если для этого образца значение **Ct** в ГРС-1 по каналу «**ROX» меньше или равно 40**.

Анализируемый образец считается **положительным** *(содержащим РНК ВГС)*, если для этого образца значение **Ct** в ГРС-1 по каналу **«HEX» меньше или равно 40**.

Анализируемый образец считается **положительным** *(содержащим РНК ВИЧ-1)*, если для этого образца значение **Ct** в ГРС-2 по каналу **«ROX» меньше или равно 40**.

Анализируемый образец считается **положительным** *(содержащим РНК ВИЧ-2),* если для этого образца значение **Ct** в ГРС-2 по каналу **«HEX» меньше или равно 40**.

8.2.4. Если для анализируемого образца определяется **Ct больше 40**, рекомендуется проведение дополнительных исследований *(в случае индивидуального образца – повторное исследование данного образца, начиная с этапа выделения НК, или исследование с использованием другого набора реагентов, в случае минипула – исследование индивидуальных образцов, вошедших в его состав).*

8.2.5. В случае контаминации все положительные результаты по данной индивидуальной постановке ПЦР считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

9.5. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

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

10.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора ***«РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР»****, следует обращаться в* ***АО «Вектор-Бест»*** *по адресу:*
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,
тел. (383): 252-51-62, 227-60-30;
тел./факс (383): 252-51-81, 252-51-77.
E-mail: plkobtk@vector-best.ru

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-75.

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