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

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для выявления и количественного определения
ДНК вируса герпеса человека 6 типа
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
(РеалБест ДНК ВГЧ-6
(комплект 1)

11. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса человека 6 типа методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени **«РеалБест ДНК ВГЧ-6»** предназначен для качественного выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) в клинических образцах *(соскобы из ротоглотки, сыворотка (плазма) крови, цельная кровь, моча, слюна)* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени. Набор может быть использован при диагностике герпес-вирусной инфекции, обусловленной вирусом герпеса человека 6 типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранного участка ДНК возбудителя инфекции в ходе проведения ПЦР.

Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой. В основе регистрации процесса амплификации лежит измерение сигналов флуоресценции в каждом цикле ПЦР. Увеличение сигналов флуоресценции происходит благодаря использованию гибридизационного ДНК-зонда, специфичного для выбранного участка ДНК возбудителя инфекции, который в ходе реакции связывается с одной из цепей ДНК, обеспечивая также дополнительную специфичность метода. ДНК-зонд содержит на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце – гаситель флуоресценции, значительно снижающий интенсивность флуоресценции. В ходе полимеразного синтеза комплементарной цепи, благодаря 5'–3'-нуклеазной активности Taq ДНК-полимеразы, зонд расщепляется с 5'-конца и происходит разобщение красителя и гасителя, приводящее по мере накопления продукта реакции к возрастанию сигнала флуоресценции *(см. Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., & Gelfand, D. H. (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase. Proceedings of the National Academy of Sciences, 88(16), 7276–7280. doi:10.1073/pnas.88.16.7276).* Измеряемая интенсивность флуоресценции зависит от количества образовавшихся специфических ампликонов и динамика нарастания флуоресценции определяется исходным количеством ДНК возбудителя инфекции в образце *(см. Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., & Watson, R. (1993). Kinetic PCR Analysis: Real-time Monitoring of DNA Amplification Reactions. Nature Biotechnology, 11(9), 1026–1030.* doi:10.1038/nbt0993-1026). При этом определяется значение порогового цикла (**Ct**) – номер цикла, на котором уровень флуоресцентного сигнала, появляющегося

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

в ходе специфичной реакции амплификации, достоверно превышает фоновые колебания. Значение **Ct** и начальная концентрация целевой ДНК в пробе чётко связаны математической функцией *(см., например: Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., ... Zoric, N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. Molecular Aspects of Medicine, 27(2-3), 95–125. doi:10.1016/j. mam.2005.12.007).* Соответствие значений **Ct** и численных значений концентрации ДНК ВГЧ-6 в исследуемых образцах устанавливается в каждой постановке за счёт использования **положительного контрольного образца (ПКО)**, аттестованного относительно международного стандарта ВОЗ в международных единицах на 1 мл анализируемого образца *(МЕ/мл) (NIBSC code 15/266).*

Учёт эффективности выделения ДНК из образцов обеспечивается выделением ДНК возбудителя инфекции из клинических образцов совместно с предварительно внесённым **внутренним контрольным образцом (ВКО)**.

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) *Описание.*	**Количество**
Положительный контрольный образец (ПКО) *Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05%)* *Аттестован относительно стандарта ВОЗ «1st WHO International Standard HHV-6B virus DNA» (NIBSC code 15/266)*	1 пробирка, 1 мл
Готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС) *Лиофилизированная*	96 пробирок
Оптическая плёнка	1,5 листа
Вкладыш с информацией о концентрации ДНК ВГЧ-6 в ПКО	1 шт

2.3. Условия применения.

Комплект 1 применяется с регистрирующими амплификаторами планшетного типа: «CFX96», «iQ5 iCycler», *(фирма «Bio-Rad», США),* «ДТ-96», «ДТпрайм», «ДТлайт» (*ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).*

Аналитические и диагностические характеристики набора были валидированы при выделении ДНК ВГЧ-6 из клинических образцов *(соскобов из ротоглотки, сыворотки (плазмы) крови, цельной крови, моча, слюна)* с использованием наборов **«РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 2», «РеалБест ДНК-экстракция 3», «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг»** и **«Лизирующий раствор»** производства АО «Вектор-Бест».

Количественное определение ДНК ВГЧ-6 в сыворотке *(плазме)* крови валидировано при выделении ДНК наборами **«РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг»**. Количественное определение ДНК ВГЧ-6 в цельной крови валидировано при выделении ДНК набором **«РеалБест экстракция 100»**.

Комплект 1 рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные образцы.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность:

Чувствительность выявления ДНК ВГЧ-6 – 40 МЕ в пробе. Определяется по стандартному образцу предприятия (*СОП 05-2-396, аттестован относительно стандарта ВОЗ «1st WHO International Standard HHV-6B virus DNA» (NIBSC code 15/266))*. Образцы с содержанием ДНК ВГЧ-6 40 МЕ в пробе в 100% случаев дают положительный результат.

3.2. Диапазон определяемых концентраций *(область линейности):* от 500 до 10^7 МЕ ДНК ВГЧ-6/мл.

Тест на «линейность» – характеризует совпадение *(в %)* измеренного значения и предписанного значения *(вычисленного с учётом фактора разведения)* логарифма концентрации ДНК ВГЧ-6 в образце, приготовленном разведением из СОП. Значение «линейности» находится в пределах

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

90–110%.

3.3. **Воспроизводимость** - коэффициент вариации значений логарифма концентрации ДНК ВГЧ-6 не превышает 10%.

3.4. Аналитическая специфичность:

Для оценки аналитической специфичности были проведены проверки с ДНК герпесвирусов других типов: вируса ветряной оспы *(VZV, герпесвирус человека тип 3)*, вируса Эпштейна-Барр *(ВЭБ, герпесвирус человека тип 4)*, цитомегаловируса *(ЦМВ, герпесвирус человека тип 5)*, вируса простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1,2), герпесвирус человека тип 8 (ВГЧ-8). Перекрёстно реагирующих ДНК герпесвирусов других типов, по данным, полученным при исследованиях в рамках клинико-лабораторных испытаний, обнаружено не было.

Был проведен *in silico* анализ последовательностей праймеров и зондов по базам последовательностей микроорганизмов и вирусов. Возможность перекрестных реакций исключена.

3.5. **Диагностическая чувствительность** выявления ДНК ВГЧ-6: клинические испытания, проведённые на 84 положительных образцах, показали 100% чувствительность *(интервал 95,7% – 100%, с доверительной вероятностью 95%)*;

3.6. **Диагностическая специфичность** выявления ДНК ВГЧ-6: клинические испытания, проведённые на 76 отрицательных образцах, показали 100% специфичность *(интервал 95,3% – 100%, с доверительной вероятностью 95%);*

3.7. Потенциально интерферирующие вещества.

Для выделения ДНК при работе с набором реагентов используются зарегистрированные в установленном порядке наборы реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов – **«РеалБест ДНК-экспресс»**, **«РеалБест ДНК-экстракция 2»**, **«РеалБест ДНК-экстракция 3»**, **«РеалБест экстракция 100»**, **«РеалБест УниМаг»** и **«Лизирующий раствор»** производства АО «Вектор-Бест». При использовании данных наборов в соответствии с инструкциями по их применению не ожидается влияние интерферентов, которые могут присутствовать в образцах соскобов из ротоглотки, сыворотки *(плазмы)* крови, цельной крови, мочи, слюны.

В клинических испытаниях показано отсутствие влияния потенциально интерферирующих веществ в образцах цельной крови *(гемоглобина до 240 г/л, билирубина до 0,2 мг/мл (350 мкмоль/л), триглицеридов до 30 мг/мл, альбумина до 90 мг/мл),* образцах соскобов эпителиальных клеток *(кровь до 0,5%)* и образцах мочи *(билирубин до 0,2 мг/мл (350 мкмоль/л), глюкоза до 55 ммоль/л, белок до 3 г/л)* на результаты анализа методом ПЦР набором **«РеалБест ДНК ВГЧ-6»**.

ЭДТА, используемый в качестве антикоагулянта, не оказывает влияния на результаты анализа.

Запрещено использование гепарина в качестве антикоагулянта в связи с его возможным ингибирующим влиянием на ПЦР.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

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

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК 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,

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

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», 0,2% раствор «ДП-2Т»; 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 помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических *(профилактических)* мероприятий».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с детекцией флуоресценции в режиме реального времени *(с каналами детекции «FAM» и «ROX»):* «CFX96», «iQ5 iCycler», *(фирма «Bio-Rad», США),* «ДТ-96», «ДТпрайм», «ДТлайт» *(ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)* или их аналоги, зарегистрированные в установленном порядке в РФ;
- 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, обеспечивающий частоту вращения 1800 об/мин *(например, «BioShake iQ» фирма «Analytik Jena», 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 и 0,2 мл (например, фирма «SSI», США);
- контейнер для сброса отходов (например, «Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ»);
- магнитный штатив для пробирок (АО «Вектор-Бест», Россия);
- 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».

Подробно с правилами забора биоматериала можно ознакомиться в Методических

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

рекомендациях по лабораторным тестам для студентов медицинских учебных заведений, лечащих врачей, сотрудников процедурных кабинетов и клинико-диагностических лабораторий «Преаналитический этап лабораторных исследований» Министерства образования и науки *(сост.: Кочетов А.Г. с соавт – Москва: РУДН, 2012. – 251 с.).*

Для выявления ДНК ВГЧ-6 используется ДНК, выделенная из клинических образцов с использованием соответствующих наборов для выделения ДНК:

– из образцов соскобов из ротоглотки, мочи, слюны – **«РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 2», «РеалБест ДНК-экстракция 3», «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг»** и **«Лизирующий раствор»**;

– из образцов сыворотки крови, плазмы крови *(полученной с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта)* – **«РеалБест ДНК-экстракция 3», «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг»**;

– из образцов цельной крови – **«РеалБест экстракция 100»**.

При выделении ДНК из образцов цельной крови, необходимо провести их предварительную обработку с использованием набора реагентов **«РеалБест Гемолитик»** согласно инструкции по применению набора.

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

Для количественного определения ДНК ВГЧ-6 выделение ДНК производится:

– из 100 мкл сыворотки крови, 100 мкл плазмы крови *(полученной с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта)* набором **«РеалБест экстракция 100»** или **«РеалБест УниМаг»**;

– из 250 мкл цельной крови набором **«РеалБест экстракция 100».** При выделении ДНК из образцов цельной крови, необходимо провести их предварительную обработку с использованием набора реагентов **«РеалБест Гемолитик»** согласно инструкции по применению набора.

Каждая группа образцов должна содержать 3 ПКО и 1 ОКО. Объём элюции – 200 мкл.

Выделенную ДНК 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 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 (для количественного определения 1 ОКО и 3 ПКО))* пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их плёнкой.

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

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

6.2.2. ПКО после вскрытия пробирки 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 пронумеровать и расположить в штативе.

Внимание! *Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!*

7.2. В каждую пробирку дозатором, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром, внести по **50 мкл раствора выделенной ДНК.** Заклеить пробирки оптической плёнкой.

Поместить пробирки в мини-шейкер. Перемешать содержимое пробирок с частотой вращения

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

1800 об/мин в течение 1 минуты.

7.3. Поместить пробирки в амплификатор.

7.4. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфических фрагментов ДНК ВКО, ДНК ВГЧ-6 и детекции сигналов флуоресценции в соответствии с инструкцией к прибору:

1 стадия: 50 °С – 2 минуты;
2 стадия: 95 °С – 2 минуты;
3 стадия: 50 циклов *(94 °С – 10 секунд, 60 °С – 20 секунд)* *.

**Измерение флуоресценции проводить при 60 °С.*

7.6. Выбрать каналы детекции результатов амплификации **ДНК ВКО** и **ДНК ВГЧ-6:**

– **«FAM»** – для регистрации сигнала **ДНК ВКО;**

– **«ROX»** – для регистрации сигнала **ДНК ВГЧ-6.**

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

7.7. Запустить программу и провести реакцию амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов.

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

– нарастание сигнала амплификации **ДНК ВКО** *(канал «FAM»)* и определять значение порогового цикла **Ct ВКО**;

– нарастание сигнала амплификации **ДНК ВГЧ-6** *(канал «ROX»)* и определять значение порогового цикла **Ct ПКО**.

8.1.2. В **ОКО** программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО *(канал «FAM»)* и определять **Ct** ВКО, при этом по каналу **«ROX»** программа не должна регистрировать нарастания сигнала специфического продукта амплификации ДНК с **Ct меньше или равно 40**.

Если для ОКО значение **Ct** по каналу **«ROX» меньше или равно 40**, то это свидетельствует о наличии контаминации *(см. п. 8.2.4)*.

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

8.2. Учёт результатов.

8.2.1. Вычислить $(\mathbf{Ct}\ ВКО)_{ср}$ как среднее значение **Ct** ВКО всех анализируемых образцов *(включая ПКО и ОКО)*. Отбраковке подлежат значения **Ct** ВКО, 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 **положительным** *(содержащим ДНК ВГЧ-6)*, если для этого образца значение **Ct** по каналу **«ROX» меньше или равно 40**.

8.2.3. Анализируемый образец считается **отрицательным** *(не содержащим ДНК ВГЧ-6)*, если для этого образца значение **Ct** по каналу **«ROX» больше 40 или 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 ДНК.

8.2.4. 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.

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

8.3. Количественный учёт результатов.

Для количественного анализа рассчитать концентрацию ДНК ВГЧ-6 в исследуемых образцах в соответствии с **Приложением**.

8.3.1. Если вычисленное значение концентрации ДНК ВГЧ-6 в образце находится в диапазоне от 500 до 10^7 МЕ ДНК ВГЧ-6/мл, результат определяется **как положительный** с указанием полученной концентрации ДНК ВГЧ-6 в образце *(в МЕ/мл)*.

8.3.2. Если вычисленное значение концентрации ДНК ВГЧ-6 больше 10^7 МЕ, то результат рекомендуется интерпретировать **как положительный** с концентрацией ДНК ВГЧ-6 «больше 10^7 МЕ/мл».

8.3.3. Если вычисленное значение концентрации ДНК ВГЧ-6 меньше 500 МЕ/мл, то результат рекомендуется интерпретировать **как положительный** с концентрацией ДНК ВГЧ-6 «меньше 500 МЕ/мл».

8.3.4. Анализируемый образец учитывается как **отрицательный** (не содержащий ДНК ВГЧ-6), если для этого образца значение **Ct** по каналу **«ROX» больше 40 или не определяется**.

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.

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 ДНК ВГЧ-6»**, следует обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:*
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,
тел. (383) 252-51-75, 227-60-30;
тел./факс (383) 252-51-81, 252-51-77.
E-mail: plkobtk@vector-best.ru

ПРИЛОЖЕНИЕ

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

Расчёт концентрации ДНК ВГЧ-6

Количественный анализ ДНК ВГЧ-6 следует производить по приведенным ниже формулам.

1. Для образцов ПКО, значение **Ct** которых находится в диапазоне значений, указанном во вкладыше в наборы данной серии, вычислить корректированные значения **Ct** ВГЧ-6 с введением поправки на эффективность выделения, контролируемую по **Ct** ВКО, по формуле:

$$\mathbf{Zпко = Ct\ ПКО + (Ct\ ВКО_{ср} - Ct\ ВКО),}$$

где:

Zпко - корректированное значение **Ct** ВГЧ-6 для образца ПКО;

Ct ВКО$_{ср}$ – среднее значение **Ct** ВКО, вычисленное по всем образцам (см. инструкцию);

Ct ПКО и **Ct ВКО** – значения **Ct** данного образца ПКО по каналам **«ROX»** и **«FAM»**, соответственно.

2. Вычислить среднее значение корректированного порогового цикла для ПКО **(Zпко$_{ср}$)**.

Отбраковке подлежат результаты анализа образцов ПКО, для которых **Zпко** отличается более чем на 2 от значения **Zпко$_{ср}$**. После отбраковки вычислить **Zпко$_{ср}$** для оставшихся образцов.

3. Вычислить количество ДНК ВГЧ-6 в каждом исследуемом образце (Q_k) по формуле:

$$\mathbf{Q_k = Спко \times 2^{X_k}\ (МЕ),}$$

где:

$\mathbf{X_k = Zпко_{ср} - Z_k}$;

Zпко$_{ср}$ – среднее значение Z для образцов ПКО;

Спко – концентрация ДНК ВГЧ-6 в ПКО, приведенная во вкладыше к набору, МЕ/мл;

k – номер образца;

$\mathbf{Z_k}$ – корректированное значение C_t данного образца, вычисляемое по формуле:

$$\mathbf{Z_k = Ct\ ВГЧ\text{-}6_k + (Ct\ ВКО_{ср} - Ct\ ВКО_k).}$$

4. Вычислить концентрацию C_k ДНК ВГЧ-6 (в МЕ/мл) в каждом исследуемом образце:

– при выделении из **100** мкл образца: $\mathbf{C_k=10 \times Q_k}$

– при выделении из **250** мкл образца: $\mathbf{C_k=4 \times Q_k}$

Таким образом, будет получена концентрация ДНК ВГЧ-6 в данном образце, выраженная в МЕ/мл.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Расчёт концентрации ДНК ВГЧ-6

Количественный анализ ДНК ВГЧ-6 следует производить по приведенным ниже формулам.

1. Для образцов ПКО, значение **Ct** которых находится в диапазоне значений, указанном во вкладыше в наборы данной серии, вычислить корректированные значения **Ct** ВГЧ-6 с введением поправки на эффективность выделения, контролируемую по **Ct** ВКО, по формуле:

$$\mathbf{Zпко = Ct\ ПКО + (Ct\ ВКО_{ср} - Ct\ ВКО),}$$

где:

Zпко - корректированное значение **Ct** ВГЧ-6 для образца ПКО;

Ct ВКО$_{ср}$ – среднее значение **Ct** ВКО, вычисленное по всем образцам (см. инструкцию);

Ct ПКО и **Ct ВКО** – значения **Ct** данного образца ПКО по каналам **«ROX»** и **«FAM»**, соответственно.

2. Вычислить среднее значение корректированного порогового цикла для ПКО **(Zпко$_{ср}$)**.

Отбраковке подлежат результаты анализа образцов ПКО, для которых **Zпко** отличается более чем на 2 от значения **Zпко$_{ср}$**. После отбраковки вычислить **Zпко$_{ср}$** для оставшихся образцов.

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

3. Вычислить количество ДНК ВГЧ-6 в каждом исследуемом образце (Q_k) по формуле:

$$Q_k = Спко \times 2^{Xk} (МЕ),$$

где:

$X_k = Zпко_{ср} - Z_k$;

$Z_{ПКОср}$ – среднее значение Z для образцов ПКО;

Спко – концентрация ДНК ВГЧ-6 в ПКО, приведенная во вкладыше к набору, МЕ/мл;

k – номер образца;

Z_k – корректированное значение C_t данного образца, вычисляемое по формуле:

$Z_k = Ct\ ВГЧ\text{-}6_k + (Ct\ ВКО_{ср} - Ct\ ВКО_k)$.

4. Вычислить концентрацию C_k ДНК ВГЧ-6 (в МЕ/мл) в каждом исследуемом образце:

– при выделении из **100** мкл образца: $C_k=10 \times Q_k$

– при выделении из **250** мкл образца: $C_k=4 \times Q_k$

Таким образом, будет получена концентрация ДНК ВГЧ-6 в данном образце, выраженная в МЕ/мл.

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