

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»



Хусаинов М.Д.

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

«РеалБест ДНК ВПГ-1,2»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «РеалБест ДНК ВПГ-1,2» предназначен для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ 1, 2), выделенной из клинических проб, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Комплект 1 предназначен для применения с регистрирующими амплификаторами: «iQ iCycler», «iQ5 iCycler» и «CFX96» (фирма Bio-Rad, США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) или их аналогами.

Набор реагентов может быть применен в клинической практике для анализа клинического материала (соскоб эпителиальных клеток, моча, сыворотка, плазма крови).

Выделение ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов из клинических проб проводится с помощью наборов «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000».

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранного фрагмента ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах: температурная денатурация, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями, достройка полинуклеотидных по-

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: Директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

следовательностей с этих праймеров Taq-полимеразой.

В основе используемого метода регистрации лежит измерение флуоресценции в каждом цикле ПЦР.

Увеличение количества флуоресценции происходит благодаря использованию специфичного для данного участка ДНК ВПГ 1, 2 гибридизационного ДНК-зонда, который в ходе реакции связывается с одной из цепей ДНК, обеспечивая дополнительную специфичность метода. ДНК-зонд содержит на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце – гаситель флуоресценции, значительно снижающий ее интенсивность. В ходе полимеразного синтеза комплементарной цепи, благодаря 5'-3'-экзонуклеазной активности Taq-полимеразы, зонд расщепляется с 5'-конца и происходит разобщение красителя и гасителя, приводящее по мере накопления продукта реакции к возрастанию сигнала флуоресценции. При этом измеряемая интенсивность флуоресценции пропорциональна количеству образовавшихся специфических ампликонов и динамика нарастания флуоресценции определяется исходным количеством ДНК возбудителя инфекции в образце.

Достоверность анализа контролируется по наличию положительного результата в образце ПКО, который подвергается процедуре выделения ДНК вместе с анализируемыми биопробами.

Учёт эффективности выделения ДНК из образцов обеспечивается выделением ДНК ВПГ 1, 2 из клинических проб совместно с предварительно внесённым неконкурентным внутренним контрольным образцом (ВКО).

2.2. Состав набора:

- положительный контрольный образец универсальный (ПКО) – на основе плазмидной ДНК со встройкой фрагментов ДНК возбудителей инфекций – 1 пробирка (1,0 мл);
- готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), лиофилизированная – 96 пробирок (12 стрипов по 8 пробирок).

Набор дополнительно комплектуется:

- оптической плёнкой – 1,5 листа.

Внимание! ПКО должен пройти процедуру выделения ДНК с помощью наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000» согласно инструкции к соответствующему набору.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность – определение 100 копий ДНК ВПГ 1, 2 в пробах – 100%.

3.2. Специфичность определения ДНК ВПГ 1, 2 (по стандартной панели предприятия отрицательных ДНК-экстрактов) – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

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».

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 1888-04 «Организация работы при исследовании методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором пипеток переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для пипеток.

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

4.8. После окончания работ для предотвращения контаминации рабочие поверхности ламинарных боксов и лабораторных столов следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор ДП-2Т; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени:

«iQ iCycler», «iQ5 iCycler», «CFX96» (фирма Bio-Rad, США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) или их аналог;

– ламинарный бокс II-го класса биологической защиты, предназначенный для работы с инфекционным материалом (фирма «Ламинарные системы», Россия);

- холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С;
- микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма Eppendorf, Германия);
- пипетки полуавтоматические (дозаторы механические) одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками (фирма Ленпипет, Россия; фирма Biohit, Финляндия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма Ansell HealthCare, Германия);
- одноразовые наконечники для пипеток с защитным фильтром /аэрозольным барьером/ (фирма FinTip, Финляндия);
- штативы для микропробирок вместимостью 1,5 мл, 2,0 мл и 0,2 мл (фирма Хеликон, Россия);
- контейнер для сброса отходов (например, «Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма КМ-ПРОЕКТ, или аналогичный).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа используются пробы выделенной ДНК, полученные из клинического материала с помощью одного из наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000», согласно инструкции по применению соответствующего набора реагентов.

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

Выделенную ДНК хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 суток.

Положительный контрольный образец (ПКО) после вскрытия флакона хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 месяца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка компонентов набора

Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре от 18 до 25 °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа отрезать необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контроли: 1 ОКО и 1 ПКО) пробирок с готовой реакционной смесью. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

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

После первого вскрытия упаковки срок годности ГРС составляет 3 месяца при температуре хранения от 2 до 8 °С.

7.2. Необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контроли) пробирок с готовой реакционной смесью для ПЦР (ГРС) пронумеровать и расположить в штативе.

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Крышки или оптическая плёнка должны оставаться чистыми!

7.3. В каждую пробирку пипеткой с отдельным наконечником с фильтром внести по 50 мкл соответствующего раствора выделенной ДНК. Плотнo закрыть пробирки крышками или заклеить оптической плёнкой.

7.4. Поместить пробирки в амплификатор.

7.5. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфических фрагментов ДНК ВПГ 1, 2 и ВКО, и детекции сигналов флуоресценции. Программирование амплификатора проводить в соответствии с инструкцией к прибору.

7.6. Запрограммировать протокол проведения реакции амплификации:

1 стадия: 94 °С – 1 мин;

2 стадия: 50 циклов (94 °С – 10 сек, 60 °С – 20 сек).

Измерение флуоресценции проводить при 60 °С.

7.7. Выбрать канал детекции результатов амплификации ДНК ВПГ 1, 2 и ВКО.

Для регистрации процесса амплификации ДНК ВКО следует выбрать канал детекции «FAM».

Для регистрации процесса амплификации ДНК ВПГ 1, 2 следует выбрать канал детекции «ROX».

7.8. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми образцами, положительным и отрицательным контролями согласно инструкции к используемому прибору.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При применении набора с амплификаторами «iQ5 iCycler», «CFX96» и программой «РеалБест диагностика» программа проводит все операции по анализу, отбраковке и вычислениям результатов.

При использовании других амплификаторов учет результатов проводить в соответствии с разделом 9 данной инструкции.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. В положительном контрольном образце (ПКО) программа должна фиксировать:

- нарастание сигнала амплификации ДНК ВПГ 1, 2 (канал «ROX») и определять значение порогового цикла C_t ПКО;
- нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять значение порогового цикла C_t ВКО.

9.2. В отрицательном контрольном образце (ОКО) программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять C_t ВКО, при этом программа не должна регистрировать нарастания сигнала специфического продукта амплификации ДНК по каналу «ROX».

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

9.4. Вычислить $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ как среднее значение C_t ВКО всех анализируемых образцов (включая ПКО и ОКО). Отбраковке подлежат значения C_t ВКО, отличающиеся более чем на 2 от значения $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$. После отбраковки пересчитать $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ для оставшихся значений.

9.5. Анализируемый образец считается положительным, т.е. содержащим ДНК ВПГ 1, 2, если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» меньше или равно 40.

9.6. Результат анализа образца считается отрицательным, если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» больше 40 или не определяется.

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

9.7. Если для ОКО значение C_t по каналу «ROX» меньше или равно 40, то это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае положительные результаты, полученные в 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, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать как отрицательные.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при

температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание набора не допускается.

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

10.4. Запрещается использовать компоненты из наборов разных серий.

11. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями и настоящей инструкцией по применению.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46, 332-37-58, тел./факс (383), 336-60-30, 332-67-52.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru.

Начальник отделения

АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству

АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 7 листов.
Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"



Масяго А.В.
20 20 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

Хусаинов М.Д.

2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов

методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

«РеалБест ДНК ВПГ-1,2»

(комплект 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «РеалБест ДНК ВПГ-1,2» предназначен для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ 1, 2), выделенной из клинических проб, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Комплект 2 предназначен для применения с регистрирующими амплификаторами как роторного типа: «Rotor-Gene 3000», «Rotor-Gene 6000» (фирма Corbett Research, Австралия), так и планшетного типа: «iQ iCycler», «iQ5 iCycler», «CFX96» (фирма Bio-Rad, США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) или их аналогами.

Набор реагентов может быть применен в клинической практике для анализа клинического материала (соскоб эпителиальных клеток, моча, сыворотка, плазма крови).

Выделение ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов из клинических проб проводится с помощью наборов «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000».

Комплект 2 рассчитан на проведение анализа 100 образцов, включая контрольные образцы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранного фрагмента ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах: температурная денатурация, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями, достройка полинуклеотидных последовательностей с этих праймеров Таq-полимеразой.

В основе используемого метода регистрации лежит измерение флуоресценции в каждом цикле ПЦР.

Увеличение количества флуоресценции происходит благодаря использованию специфичного для данного участка ДНК ВПГ 1, 2 гибридизационного ДНК-зонда, который в ходе реакции связывается с одной из цепей ДНК, обеспечивая дополнительную специфичность метода. ДНК-зонд содержит на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце – гаситель флуоресценции, значительно снижающий ее интенсивность. В ходе полимеразного синтеза комплементарной цепи, благодаря 5'-3'-экзонуклеазной активности Таq-полимеразы, зонд расщепляется с 5'-конца и происходит разобщение красителя и гасителя, приводящее по мере накопления продукта реакции к возрастанию сигнала флуоресценции. При этом измеряемая интенсивность флуоресценции пропорциональна количеству образовавшихся специфических ампликонов и динамика нарастания флуоресценции определяется исходным количеством ДНК возбудителя инфекции в образце.

Достоверность анализа контролируется по наличию положительного результата в образце ПКО, который подвергается процедуре выделения ДНК вместе с анализируемыми биопробами.

Учёт эффективности выделения ДНК из образцов обеспечивается выделением ДНК ВПГ 1, 2 из клинических проб совместно с предварительно внесённым неконкурентным внутренним контрольным образцом (ВКО), что позволяет контролировать эффективность выделения ДНК из анализируемых образцов.

2.2. Состав набора:

- положительный контрольный образец универсальный (ПКО) – на основе плазмидной ДНК со встройкой фрагментов ДНК возбудителей инфекций – 1 пробирка (1,0 мл);
- реакционная смесь для ПЦР (РС), лиофилизированная – 10 пробирок, каждая на 10 определений;
- раствор для восстановления (РВ) – 2 флакона (по 2,0 мл).

Внимание! ПКО должен пройти процедуру выделения ДНК с помощью наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000» согласно инструкции к соответствующему набору.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность – определение 100 копий ДНК ВПГ 1, 2 в пробах – 100%.

3.2. Специфичность определения ДНК ВПГ 1, 2 (по стандартной панели предприятия отрицательных ДНК-экстрактов) – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

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».

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 1888-04 «Организация работы при исследовании методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором пипеток переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для пипеток.

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

4.8. После окончания работ для предотвращения контаминации рабочие поверхности ламинарных боксов и лабораторных столов следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор ДП-2Т; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени роторного

типа: «Rotor-Gene 3000», «Rotor-Gene 6000» (фирма Corbett Research, Австралия) или планшетного типа: «iQ iCycler», «iQ5 iCycler», «CFX96» (фирма Bio-Rad, США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) или их аналог;

– ламинарный бокс II-го класса биологической защиты, предназначенный для работы с инфекционным материалом (фирма «Ламинарные системы», Россия);

– холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С;

– микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма Eppendorf, Германия);

– пипетки полуавтоматические (дозаторы механические) одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками (фирма Ленпипет, Россия; фирма Biohit, Финляндия);

– перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма Ansell HealthCare, Германия);

– одноразовые наконечники для пипеток с защитным фильтром /аэрозольным барьером/ (фирма FinTip, Финляндия);

– штативы для микропробирок вместимостью 1,5 мл, 2,0 мл и 0,2 мл (фирма Хеликон, Россия);

– пробирки для ПЦР вместимостью 0,2 мл (фирма Ахуген, США) или аналогичные;

– контейнер для сброса отходов (например, «Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма КМ-ПРОЕКТ, или аналогичный).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа используются пробы выделенной ДНК, полученные из клинического материала с помощью одного из наборов: «РеалБест ДНК-экспресс», «РеалБест ДНК-экстракция 1», «РеалБест экстракция 100» или «РеалБест экстракция 1000», согласно инструкции по применению соответствующего набора реагентов.

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

Выделенную ДНК хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 суток.

Положительный контрольный образец (ПКО) после вскрытия флакона хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 мес.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка компонентов набора

Перед началом работы извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку, отобрать необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контроли: 1 ОКО и 1

ПКО) пробирок с реакционной смесью для ПЦР (РС) и выдержать их при температуре от 18 до 25 °С не менее 30 минут.

Внимание! 1 пробирка с РС рассчитана на 10 проб.

Оставшиеся неиспользованными пробирки с РС сразу упаковать в цефленовый пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.

После первого вскрытия упаковки срок годности РС составляет 3 месяца при температуре хранения от 2 до 8 °С.

В пробирку с реакционной смесью для ПЦР (РС) добавить 300 мкл раствора для восстановления (РВ), аккуратно перемешать, выдержать 15 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего вновь тщательно перемешать. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

После восстановления хранить реакционную смесь (РС) при температуре от 2 до 8 °С не более 2 недель.

Раствор для восстановления (РВ) после вскрытия флакона хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 месяцев.

7.2. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 0,2 мл (по количеству исследуемых образцов, включая необходимые контроли). Необходимо учитывать, что каждая индивидуальная постановка ПЦР должна содержать 1 ОКО и 1 ПКО.

Внимание! Для амплификаторов роторного типа надписи следует располагать на крышках пробирок.

Для амплификаторов планшетного типа надписи следует располагать на боковой части пробирок.

7.3. Во все пробирки пипеткой с наконечником с фильтром внести 25 мкл реакционной смеси для ПЦР (РС).

7.4. Затем в каждую пробирку внести 25 мкл соответствующего раствора выделенной ДНК, используя для каждого образца индивидуальный наконечник. Плотно закрыть пробирки крышками.

7.5. Поместить пробирки в амплификатор.

7.6. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфического фрагмента ДНК ВПГ 1, 2 и ВКО, и детекции сигналов флуоресценции. Программирование амплификатора проводить в соответствии с инструкцией к прибору.

7.7. Запрограммировать протокол проведения реакции амплификации:

– для приборов «Rotor-Gene 3000» и «Rotor-Gene 6000»:

1 стадия: 94 °С – 1 мин;

2 стадия: 50 циклов (94 °С – 10 сек, 60 °С – 40 сек);

– для приборов «iQ iCycler», «iQ5 iCycler», «CFX96» и «ДТ-96»:

1 стадия: 94 °C – 1 мин;

2 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 сек, 60 °C – 20 сек).

Измерение флуоресценции для всех приборов проводить при 60 °C.

7.8. Выбрать канал детекции результатов амплификации ДНК ВПГ 1, 2 и ВКО.

Для регистрации процесса амплификации ДНК ВКО следует выбрать канал детекции «FAM».

Для регистрации процесса амплификации ДНК ВПГ 1, 2 следует выбрать канал детекции «ROX».

7.9. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми образцами, положительным и отрицательным контролями согласно инструкции к используемому прибору.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При применении набора с амплификаторами «iQ5 iCycler», «CFX96» и программой «РеалБест диагностика» программа проводит все операции по анализу, отбраковке и вычислениям результатов.

При использовании других амплификаторов учет результатов проводить в соответствии с разделом 9 данной инструкции.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. В положительном контрольном образце (ПКО) программа должна фиксировать:

- нарастание сигнала амплификации ДНК ВПГ 1, 2 (канал «ROX») и определять значение порогового цикла C_t ПКО;

- нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять значение порогового цикла C_t ВКО.

9.2. В отрицательном контрольном образце (ОКО) программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации ДНК ВКО (канал «FAM») и определять C_t ВКО, при этом программа не должна регистрировать нарастания сигнала специфического продукта амплификации ДНК по каналу «ROX».

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

9.4. Вычислить $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ как среднее значение C_t ВКО всех анализируемых образцов (включая ПКО и ОКО). Отбраковке подлежат значения C_t ВКО, отличающиеся более

чем на 2 от значения $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$. После отбраковки пересчитать $(C_t \text{ ВКО})_{\text{ср}}$ для оставшихся значений.

9.5. Анализируемый образец считается положительным, т.е. содержащим ДНК ВПГ 1, 2, если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» меньше или равно 40.

9.6. Результат анализа образца считается отрицательным, если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» больше 40 или не определяется.

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

9.7. Если для ОКО значение C_t по каналу «ROX» меньше или равно 40, то это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае положительные результаты, полученные в 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, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать как отрицательные.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание набора не допускается.

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

10.4. Запрещается использовать компоненты из наборов разных серий.

11. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями и настоящей инструкцией по применению.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46, 332-37-58, тел./факс (383), 336-60-30, 332-67-52.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru.

Начальник отделения

АО «Вектор-Бест»

 А.В. Трухина

Директор по производству

АО «Вектор-Бест»

 В.К. Ткачев

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.
Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"



А.В. Масяго Масяго А.В.
1261 20 20 г.

«Набор реагентов для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РеалБест ДНК ВПГ-1,2)» (Комплект 1)

«06 ФЕР» 2020 г.





ВЕКТОР

БЕСТ

REF

D-2193

набор реагентов для определения
ДНК вируса простого герпеса
1 и 2 типов методом полимеразной
цепной реакции в режиме
реального времени

РеалБест ДНК ВПГ-1,2
(комплект 1)

LOT 7122

СОСТАВ:

LOT

- | | | | |
|--|--------|-----------|------|
| 1. Положительный контрольный образец универсальный | 1 фл. | 1 мл | 102 |
| 2. Готовая реакционная смесь для ПЦР | 96 пр. | | 7122 |
| Принадлежности: | | | |
| Оптическая плёнка | | 1,5 листа | |

ТУ 9398-221-23548172-2009
ПУ № ФСР 2010/06866 от 25.03.2017

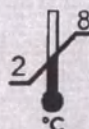


БЕКТОР

БЕСТ

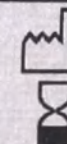
REF **D-2193**

LOT **7122**



IVD

Σ 96



2020-01-24

2021-01-24

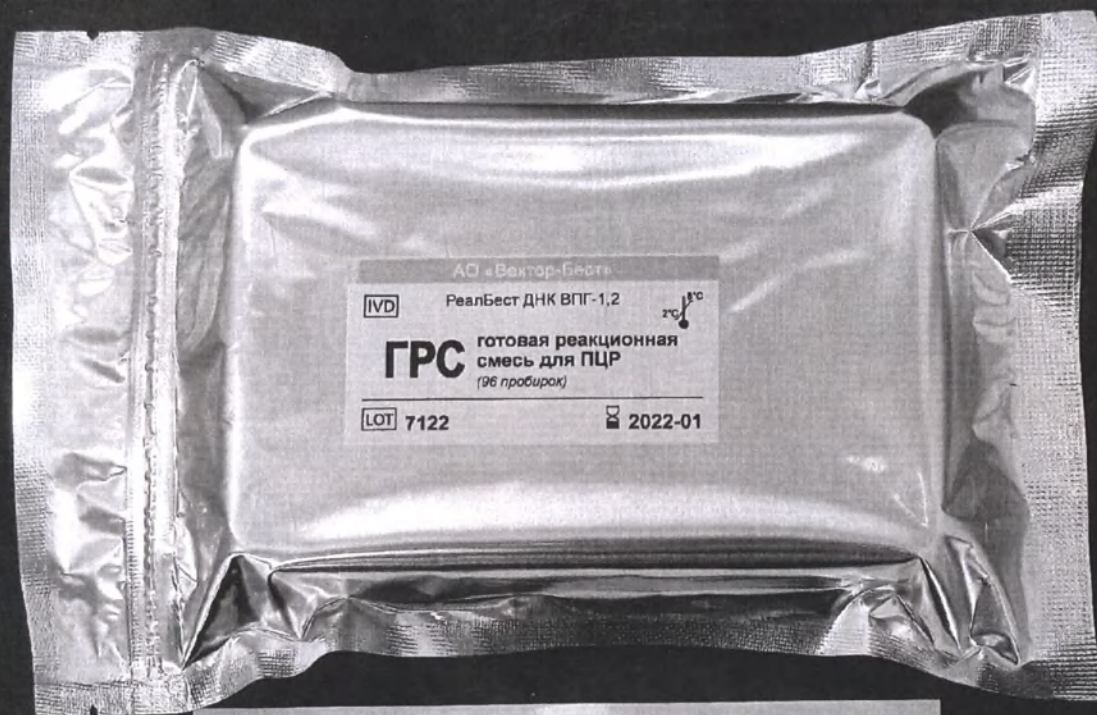
РеалБест ДНК ВПГ-1,2
(комплект 1)



21932401210712200766



Для профессионального применения





06 ФЕВ

2020 г.



Фототрафаретное изображение упаковки медицинского изделия.

«Набор реагентов для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РеалБест ДНК ВПГ-1,2)» (Комплект 1) №3

АО «Вектор-Бест»



0.6 ФЕВ

2020 г.



Фотолитическое изображение компонентов медицинского изделия
«Набор реагентов для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом полимеразной
цепной реакции в режиме реального времени (РеалБест ДНК ВПГ-1,2)» (Комплект 1) №4

АО «Вектор-Бест»



06 ФЕВ

2020 г.



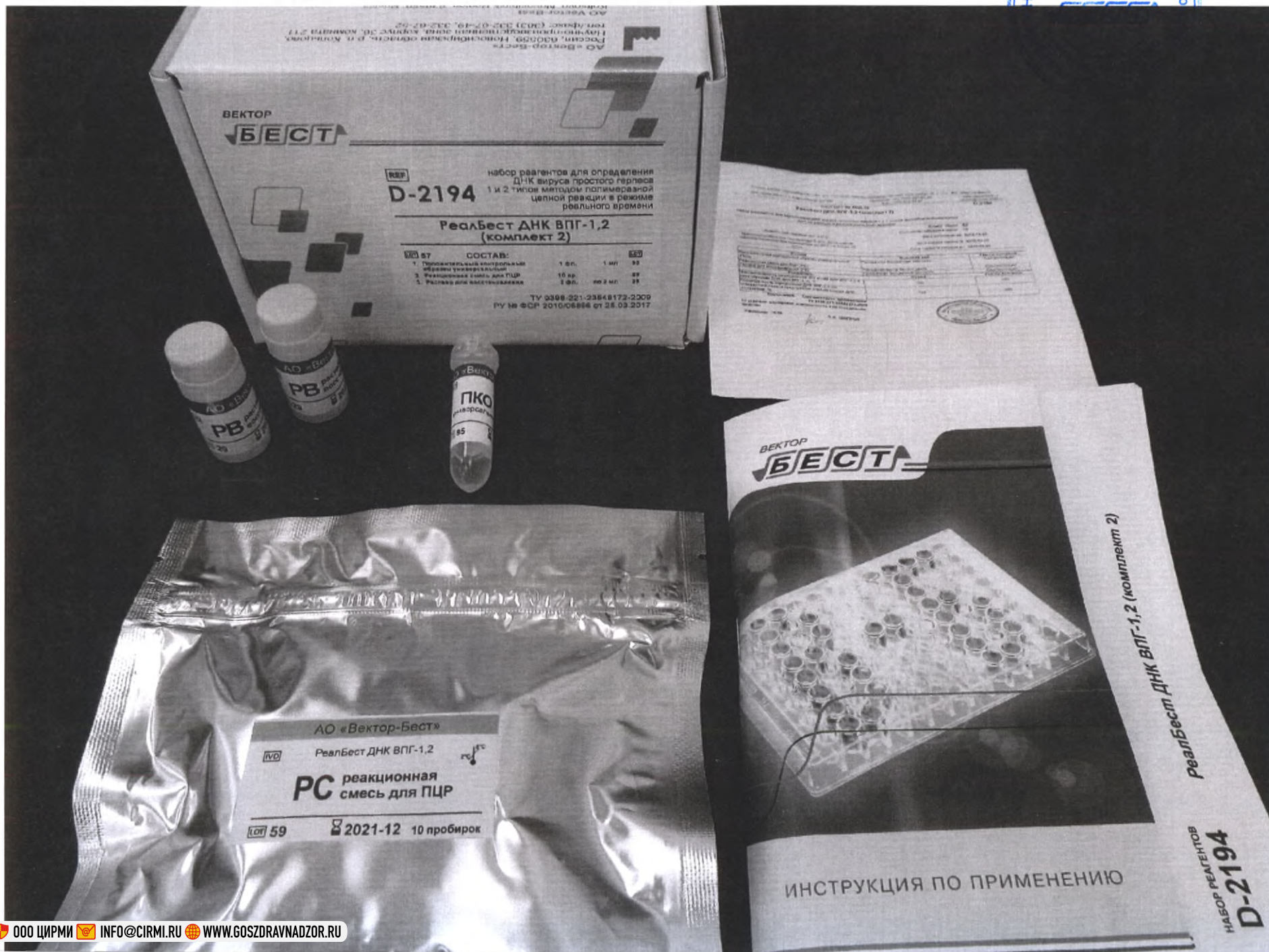
Фотографическое изображение общего вида медицинского изделия

«Набор реагентов для определения ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РеалБест ДНК ВПГ-1,2)» (Комплект 2)

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

АО «Вектор-Бест»
06 ФЕВ 2020 г.





ВЕКТОР

БЕСТ

REF

D-2194

набор реагентов для определения
ДНК вируса простого герпеса
1 и 2 типов методом полимеразной
цепной реакции в режиме
реального времени

**РеалБест ДНК ВПГ-1,2
(комплект 2)**

LOT 57

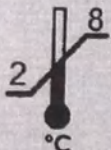
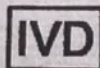
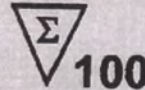
СОСТАВ:

LOT

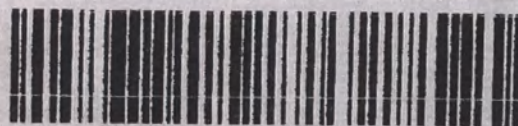
1. Положительный контрольный образец универсальный	1 фл.	1 мл	95
2. Реакционная смесь для ПЦР	10 пр.		59
3. Раствор для восстановления	2 фл.	по 2 мл	29

ТУ 9398-221-23548172-2009
ПУ № ФСР 2010/06866 от 25.03.2017



REF **D-2194** LOT **57**
    **2019-12-23**
2020-12-23

РеалБест ДНК ВПГ-1,2
(комплект 2)



21942312200005700003



Для профессионального применения

