ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Инструкция по применению
HCV Количественный

Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ООО «ДНК-Технология ТС»
_____ С.А. Самарин
«27» мая 2022 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «НПФ ДНК-Технология»
_____ С.П. Левичев
«27» мая 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени
(HCV Количественный)

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ООО «НПО ДНК-Технология»
_____ В.Ю. Дмитровский
«27» мая 2022 г.

2022

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

ВГС	- вирус гепатита С
HCV	- Hepatitis C virus
HCV WHO IS	- 6th WHO International Standard - 6й международно признанный калибратор производства NIBSC (первичный стандарт)
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ОТ	- обратная транскрипция
ИВ	- интерферирующие вещества
НК	- нуклеиновые кислоты
РНК	- рибонуклеиновая кислота
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
ВК	- внутренний контроль
СТ	- калибровочные образцы (СТ1 и СТ2)
К-	- отрицательный контрольный образец
СП HCV	- панель вторичных стандартов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ВВЕДЕНИЕ

Вирус гепатита С (HCV) является основным этиологическим агентом, ответственным за распространение вирусного гепатита [1, 2]. HCV распространен повсеместно, около 3% населения мира инфицированы HCV [3]. Инфекция, вызываемая HCV, наряду с вирусами гепатита В, признана одной из главных причин острых и хронических заболеваний печени, включая цирроз и гепатоцеллюлярную карциному. В 80% случаев острый гепатит переходит в хроническую форму, что объясняется повышенной частотой мутаций HCV и интерференцией вирусных белков с факторами врожденного и адаптивного иммунитета хозяина [4, 5].

HCV относится к роду Hepacivirus семейства Flaviviridae, наиболее родственными ему являются вирусы гепатита G, желтой лихорадки и Денге [6]. В состав вирусной частицы входят нуклеокапсид и оболочка, которая образована из мембраны клетки-хозяина и вирусных гликопротеинов Е1 и Е2. Геном представлен линейной одноцепочечной РНК, длинной около 9400 -9600 нуклеотидных оснований [7]. Вирус обладает высокой вариабельностью всех кодируемых регионов вирусного генома, и классифицируется по трем уровням гомологии: первый уровень менее 72% – генотипы, второй уровень (гомология 72-86%) – субтипы, третий уровень (гомология 86-99%) – изоляты одного субтипа, среди которых различают квазивиды [8]. В настоящее время выделяют, как минимум, восемь основных генотипов HCV и более 100 субтипов [9]. Глобально наибольшее распространение имеет генотип 1, затем генотип 3. На данный момент генотипы HCV имеют географически-обусловленное распределение [10]. В России преимущественно распространены типы 1b, 3a и 1a, значительно реже встречаются 2a, 2к и 4 [11].

Течение и результаты лечения HCV-инфекции зависят от генотипа вируса. Обладающие высокой репликативной способностью генотипы 1b и 4a являются наиболее опасными [12,13]. Выявление инфекции HCV в плазме и сыворотке крови и последующая идентификация генотипов имеют важное значение в клинической диагностике и выборе противовирусной терапии, а также обеспечении безопасного хранения крови и предоставлении эпидемиологической информации о распространенности HCV [14].

В тех случаях, когда у пациентов в сыворотке крови определяются анти-HCV (В1) и/или планируется противовирусное лечение, необходимо исследование РНК HCV высокочувствительным методом (рекомендованная диагностическая чувствительность качественного исследования - 25 МЕ/мл и выше). Пациентам с заболеванием печени неуточненной этиологии даже при отрицательном результате исследования анти-HCV рекомендуется определение РНК HCV; также этот тест целесообразно выполнять пациентам

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

с приобретенным иммунодефицитом, либо получающим иммуносупрессивную терапию [15, 16].

Диапазон вирусной нагрузки РНК HCV может варьировать в широких пределах от очень низких значений в биоматериале от лиц с бессимптомным носительством и лиц на стадии реконвалесценции до крайне высоких значений в биоматериале от пациентов с клинической картиной острого вирусного гепатита.

Для количественного определения РНК HCV в плазме (сыворотке) крови используется ПЦР-амплификация в режиме реального времени с обратной транскрипцией.

Список литературы

1. Alberti A. Natural history of hepatitis C/ A. Alberti, L. Chemello, L. Benvegnù //Journal of Hepatology. – 1999. – V. 31. – P. 17-24.
2. Ghany, M.G. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update / M.G. Ghany, D.B. Strader, D.L. Thomas, L.B. Seeff / Hepatology. – 2009. – v. 49. – p. 1335-1374
3. Shepard, C.W. Global epidemiology of hepatitis C virus infection / C.W. Shepard, L. Finelli, M.J. Alter // The Lancet infectious diseases. – 2005. – v. 5. - № 9. – p. 558-567
4. Horner, S. M. Activation and evasion of antiviral innate immunity by hepatitis C virus / S. M. Horner //Journal of molecular biology. – 2014. – V. 426. – №. 6. – P. 1198-1209
5. Irshad, M. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection / M. Irshad, D.S. Mankotia, K. Irshad // World J. Gastroenterol. – 2013. – V. 19. – N.44. – P. 7896–909
6. Murphy, F.A. Virus Taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / F.A. Murphy, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, S.A. Ghabrial, A.W. Jarvis, G.P. Martelli, M.A. Mayo, M.D. Summers – 1995. Vienna & New York Springer-Verlag. – p. 424-426
7. Kato N. Genome of human hepatitis C virus (HCV): gene organization, sequence diversity, and variation. *Microb Comp Genomics.* 2000;5: 129–151
8. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. Hepatology 2014;59(1):318e27.
9. Дерябин, П.Г. Гепатит С: современное состояние и перспективы/ П.Г. Дерябин//Вопросы вирусологии. - 2012. - №S1. - С. 91-103.
10. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. J Hepatology 2014;61(1Suppl.): S45e57
11. Самохвалов, Е.И. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Московском регионе/Е.И. Самохвалов, Л.И. Николаева, Л.И. Альховский, И.Н. Хлопова, В.В. Макашова, Е.В. Петрова, Г.В. Сапронов, Н.М. Беляева, Д.К. Львов//Вопросы вирусологии. – 2013. - №1. – с.36-40

12. Ивашкин, В.Т. Диагностика, лечение и ведение пациентов с гепатитом С. Методические рекомендации. По материалам практических рекомендаций Американского общества по изучению заболеваний печени (AASLD)/В.Т. Ивашкин// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. -2006. - Т.8. - №2. - С. 102-129
13. Cacoub, P. Hepatitis C virus-induced vasculitis: therapeutic options/ P. Cacoub, B. Terrier, D. Saadoun // Ann Rheum Dis. – 2014. – V. 73. – P. 24–30.
14. Zou, S. Donor testing and risk: current prevalence, incidence, and residual risk of transfusion-transmissible agents in US allogeneic donations / S. Zou, S.L. Stramer, R.Y. Dodd // Transfusion medicine reviews. 2012. – v. 26. - № 2. – p. 119-128.
15. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С. https://cmd-online.ru/upload/iblock/c6f/c6f628776034305fe8f09034e12cb6ee.pdf
16. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection.J Hepatol 2014;60:392–420.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 **Полное наименование набора реагентов:** Набор реагентов для количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV Количественный), далее по тексту набор реагентов.

1.2 **Назначение:** Набор реагентов предназначен для количественного определения РНК вируса гепатита С в биологическом материале человека (плазма крови) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

1.3 **Функциональное назначение:** Диагностика *in vitro*, мониторинг.

1.4 **Показания к проведению анализа:**

- необходимость количественного определения РНК вируса гепатита С;
- мониторинг вирусной нагрузки при проведении терапии.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 **Популяционные и демографические аспекты:** применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 **Область применения:** набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 **Потенциальные пользователи:** квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

REF Q3-P612-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер "V"	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 810 мкл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Калибровочный образец HCV-CT1 (5×10^7 МЕ/мл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	360 мкл
Калибровочный образец HCV-CT2 (5×10^4 МЕ/мл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	360 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

REF Q3-P612-23/9, фасовка S, пробирки.			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер "V"	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 810 мкл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Калибровочный образец HCV-CT1 (5×10^7 МЕ/мл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	360 мкл
Калибровочный образец HCV-CT2 (5×10^4 МЕ/мл)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	360 мкл

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные образцы. Производитель гарантирует достаточность реагентов: 6 независимых процедур исследования по 8 клинических образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: обратная транскрипция РНК с последующей амплификацией синтезированных фрагментов кДНК методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени; количественный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса обратной транскрипции РНК и последующей амплификации кДНК, заключающейся в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Этапы обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК проводят в одной пробирке.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Горячий старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина. Старт полимеразной цепной реакции происходит только при расплавлении парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки. Помимо этого, после окончания реакции и остывания пробирок, парафин обеспечивает запечатывание реакционной смеси и дополнительную защиту от контаминации ампликонами.

В состав набора реагентов включен внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", который предназначен для оценки этапа выделения РНК и качества прохождения обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции.

Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК HCV, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта внутреннего контрольного образца, входит флуоресцентный краситель Hex.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Для проведения количественной оценки РНК HCV набор реагентов включает калибровочные образцы в двух концентрациях: HCV-CT1 - $5{,}0\times10^7$ МЕ/мл и HCV-CT2 - $5{,}0\times10^4$ МЕ/мл.

Использование калибровочных образцов позволяет построить калибровочную прямую, при помощи которой определяют концентрацию РНК HCV в исследуемых образцах плазмы крови.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
РНК HCV	ВК*			-

* Внутренний контрольный образец РНК-ВК «А»

Исследование состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификация кДНК с одновременной детекцией результатов с использованием набора реагентов HCV Количественный.

2.4 Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2,5 часов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала человека, содержащих РНК вируса гепатита С, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует положительный результат амплификации специфического продукта по каналу детекции Fam.

Набор реагентов выявляет следующие генотипы HCV: 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6.

В образцах биологического материала, не содержащих РНК вируса гепатита С, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора фиксирует отрицательный результат амплификации специфического продукта по каналу детекции Fam и положительный результат амплификации внутреннего контроля (ВК) по каналу детекции Hex.

Оценка аналитической специфичности набора реагентов проведена на панели нуклеиновых кислот следующих организмов: РНК вирусов HAV, HDV, HGV, HIV, ДНК вирусов HBV, EBV, CMV, HSV I, HSV II, вирус гриппа А, вирус гриппа В, а также ДНК человека в концентрации до 10^8 копий/мл образца. Перекрестные реакции для указанных организмов и вирусов зарегистрированы не были.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ОТ-ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение обратной транскрипции и амплификации лабораторного контрольного образца и внутреннего контрольного образца РНК-ВК "А" составили: триглицеридов - до 40 ммоль/л образца плазмы, гемоглобина - до 2,0 г/л, билирубина - до 340 мкмоль/л, общий белок 60 г/л.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения (при использовании набора реагентов ПРОБА-НК-УЛЬТРА производства ООО «ДНК-Технология ТС»):

- 15 МЕ/мл при выделении РНК из 1000 мкл образца плазмы крови;
- 50 МЕ/мл при выделении РНК из 250 мкл образца плазмы крови.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений двух серий лабораторного контрольного образца (ЛКО).

3.4 Линейный диапазон измерения: $1{,}0\times10^2 – 5{,}0\times10^8$ МЕ/мл.

3.5 Коэффициент вариации результатов (%CV) – не более 10% (для log10 концентрации РНК HCV МЕ/мл).

3.6 Метрологическая прослеживаемость

К набору реагентов применяются требования метрологической прослеживаемости контрольных образцов (п.5.5 ГОСТ ISO 17511-2011).

В качестве международно признанного калибратора использован 6 международный стандарт для вируса гепатита С NIBSC код 18/184 (6th WHO International Standard for hepatitis C virus (HCV) RNA for nucleic acid amplification techniques (NAT)), NIBSC code 18/184.

Концентрация РНК HCV в плазме крови (рутинная проба), выраженная в МЕ/мл, определяется с применением калибровочных образцов HCV-CT1 (5×10^7 МЕ/мл) и HCV-CT2 (5×10^4 МЕ/мл), охарактеризованных к 6-му международному стандарту для гепатита С NIBSC код 18/184.

Неопределённость измерения (U) концентрации РНК HCV в плазме крови (для log10 концентрации РНК HCV МЕ/мл) составляет 0,4.

3.7 Диагностические характеристики

Количество исследований (n) – 86.

Диагностическая чувствительность (95% ДИ) – 100% (91.59%-100.00%).

Диагностическая специфичность (95% ДИ) – 100% (91.96%-100.00%).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Вирус HCV отнесен ко II группе патогенности. Класс потенциального риска применения набора реагентов: 3 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 N 4н).

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК HCV, обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, диагностическим методом, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Выделение РНК следует проводить в боксах биологической безопасности II-III класса с включенным ламинарным потоком. Подготовку к ОТ-ПЦР с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР (МУ 1.3.2569-09).

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями 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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасных компонентов	Указание на риски
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	-
ОТ-ПЦР-буфер	Нет опасных веществ	-
Фермент Taq/RT	Нет опасных веществ	-
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	**Азид натрия менее 0,1%**	является безопасным для конечного пользователя
Положительный контрольный образец	**Азид натрия менее 0,1%**	является безопасным для конечного пользователя
Калибровочный образец HCV-CT1 (5×10^7 МЕ/мл)	**Азид натрия менее 0,1%**	является безопасным для конечного пользователя
Калибровочный образец HCV-CT2 (5×10^4 МЕ/мл)	**Азид натрия менее 0,1%**	является безопасным для конечного пользователя

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц, аллергическая реакция. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалы биологического происхождения и вещества в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс (например, «Бокс лабораторный с УФ лампой для проведения полимеразной цепной реакции БЛ-ПЦР», ООО «НПО ДНК-Технология», РУ № РЗН 2015/3193 или аналогичный);
- детектирующий амплификатор планшетного типа («ДТпрайм», ООО «НПО ДНК-Технология», РУ № ФСР 2011/10229; «ДТлайт», ООО «НПО ДНК-Технология», РУ № ФСР 2011/10228; CFX96, Bio-Rad, РУ № ФСЗ 2008/03399);
- микроцентрифуга-вортекс;
- ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл (для фасовки S, стрипы);
- холодильник с морозильной камерой;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл (для фасовки S, пробирки) или для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл (для фасовки S, стрипы);
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 2,0 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объём жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- пробирки микроцентрифужные объёмом 2,0 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из плазмы крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА) (ООО «ДНК-Технология ТС», РУ № РЗН 2022/16810).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют плазму крови, выделенную из цельной периферической крови человека.

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 4,0-9,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.2 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

Транспортировать и хранить образцы крови до начала исследования при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Не допускается замораживание цельной крови!

6.3 Получение плазмы крови

Центрифугировать пробирки с кровью при RCF(g) 800-1600 в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

ВНИМАНИЕ! Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса ротора. Для определения соответствия центрифуги заданным параметрам центрифугирования обратитесь к руководству по эксплуатации.

После центрифугирования отобрать с помощью дозатора верхнюю фракцию (плазма) и перенести в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

Допускается хранение полученной плазмы при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев, при температуре от минус 68 °С до минус 72 °С не более одного года.

ВНИМАНИЕ! Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ВНИМАНИЕ! При выполнении исследований в клинической лаборатории серьезную опасность представляет риск кросс-контаминации между образцами на всех этапах работы, особенно при аликвотировании и выделении РНК. Перекрестная контаминация высококопийным биоматериалом может приводить к появлению спорадических ложноположительных результатов.

Для предупреждения кросс-контаминации биоматериалом в лаборатории рекомендуется выполнение следующих правил:

1. Необходимо проводить визуальную оценку поступившего биоматериала и выбраковку всех образцов, если среди них есть пробирки с нарушенной герметичностью.
2. Обязательно выполнять постановку отрицательных контрольных образцов, начиная с этапа выделения РНК, в каждом протоколе.
3. Использовать на всех этапах исследования наконечники с аэрозольными фильтрами.
4. Соблюдать методику выполнения исследования, открывать пробирки типа Эппендорф, не допуская касаний руки в перчатке внутренней части крышки пробирки.
5. При внесении реагентов не касаться наконечником края пробирки.

7.1 Выделение РНК

Для выделения РНК HCV из плазмы крови валидирован Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из плазмы крови с предварительным концентрированием (Проба-НК-УЛЬТРА), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия (РУ № РЗН 2022/16810).

Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора реагентов.

Каждый анализируемый клинический образец рекомендуется анализировать в дублях.

Для повышения достоверности получаемых результатов на этапе выделения нуклеиновых кислот исследуемые образцы рекомендуется продублировать (для одного исследуемого образца провести две отдельные пробоподготовки).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ВНИМАНИЕ! Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

- Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" (входит в состав набора реагентов)

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно добавление **внутреннего контрольного образца РНК-ВК "А"** в клинические образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот. **РНК-ВК "А"** следует использовать **в объеме 10 мкл на образец**.

- Отрицательный контрольный образец (из состава набора реагентов «ПРОБА-НК-УЛЬТРА»)

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование **отрицательного контрольного образца.**

На этапе выделения нуклеиновых кислот обязательно подготовить отрицательный контрольный образец (из состава набора реагентов «ПРОБА-НК-УЛЬТРА») и провести его через все этапы выделения одновременно с выделением РНК из клинических образцов в соответствии с Инструкцией по применению набора реагентов «ПРОБА-НК-УЛЬТРА».

Калибровочные образцы «HCV-CT1» и «HCV-CT2» (входят в состав набора реагентов)

Калибровочные образцы «HCV-CT1» и «HCV-CT2» необходимо провести через этап выделения нуклеиновых кислот.

Перед проведением исследования необходимо Калибровочные образцы «HCV-CT1» и «HCV-CT2» разбавить раствором отрицательного контрольного образца (из состава набора реагентов «ПРОБА-НК-УЛЬТРА»).

- При выделении РНК HCV из 1000 мкл исследуемого образца, в пробирки, маркированные «HCV-CT1» и «HCV-CT2», необходимо внести по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и 980 мкл отрицательного контрольного образца.
- При выделении РНК HCV из 250 мкл исследуемого образца, в пробирки, маркированные «HCV-CT1» и «HCV-CT2», необходимо внести по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и 230 мкл отрицательного контрольного образца.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

В случае смешанной постановки (включающей одновременный анализ образцов, выделенных из 1000 мкл и 250 мкл) выделение калибровочных образцов и отрицательного контрольного образца проводить из 1000 мкл.

Каждая группа выделяемых образцов должна включать один отрицательный контрольный образец (К-), три калибровочных образца «СТ1», три калибровочных образца «СТ2».

Пример маркировки пробирок для проведения процедуры выделения РНК

Образец плазмы	«К–»	HCV-CT1	HCV-CT2
Пробирка №1	Пробирка «К-»	Пробирка «СТ1-1»	Пробирка «СТ2-1»
Пробирка №2		Пробирка «СТ1-2»	Пробирка «СТ2-2»
		Пробирка «СТ1-3»	Пробирка «СТ2-3»

7.2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок/стрипованных пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином:

- по две пробирки для каждого исследуемого образца плазмы крови;
- три пробирки для калибровочного образца HCV-CT1 «СТ1»;
- три пробирки для калибровочного образца HCV-CT2 «СТ2»;
- одну пробирку для положительного контрольного образца «К+»;
- одну пробирку для отрицательного контрольного образца «К–».

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 12 пробирок для исследуемых образцов; 3 пробирки для «СТ1», 3 пробирки для «СТ2», одну пробирку для «К+» и одну пробирку для «К-». Общее количество пробирок – 20.

7.2.2 Встряхните пробирки ОТ-ПЦР-буфер "V" и Фермент Taq/RT в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ВНИМАНИЕ! Фермент Taq/RT необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.2.3 Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера "V" с ферментом Taq/RT. Для этого смешайте в отдельной пробирке:

- 15 х (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера "V";
- 0,5 х (N+1) мкл фермента Taq/RT,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «СТ1», «СТ2», «К+» и «К-».

Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа.

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Промаркированных пробирок – 20. Нужно приготовить смесь ОТ-ПЦР-буфера "V" с ферментом Taq/RT для 21 (20+1) пробирок, т.е. 315 мкл ОТ-ПЦР-буфера "V" + 10,5 мкл фермента Taq/RT.

ВНИМАНИЕ! При взятии фермента Taq/RT необходимо погружать наконечник не более чем на 1,0 мм и соблюдать правила дозирования вязких жидкостей. Тщательно смыть остатки фермента Taq/RT с наконечника пипетированием не менее 5 раз.

7.2.4 Встряхните на микроцентрифуге-вортексе пробирку с приготовленной смесью ОТ-ПЦР-буфера "V" и фермента Taq/RT и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.5 Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера "V" с ферментом Taq/RT.

7.2.6 Встряхните пробирки с исследуемыми образцами и контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.7 Внесите в соответствующие пробирки для исследуемых образцов (2 шт. для каждого образца), не повреждая слой парафина, по 20 мкл полученного из образцов препарата РНК.

7.2.8 Внесите в пробирки, маркированные «СТ1» и «СТ2» (3 шт. для каждого калибровочного образца), не повреждая слой парафина, по 20 мкл соответствующего калибровочного образца, прошедшего этап выделения РНК.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

7.2.9 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 20 мкл положительного контрольного образца.

7.2.10 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», не повреждая слой парафина, 20 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.

7.2.11 Центрифугируйте пробирки/стрипы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.12 Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 50 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблицах 2, 3. Укажите соответствующие концентрации калибровочных образцов: для СТ1 «5×10^7», для СТ2 «5×10^4».

Таблица 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	47	15	0	1		Цикл
2	95	5	0	1		Цикл
3	95	0	10	50		Цикл
	62	0	20		√	
5	10	…	…	Хранение		Хранение
√- режим оптических измерений						

Таблица 3 – Программа амплификации для амплификатора CFX96

№ блока (Step)	Температура, °С	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	47	15:00	1
2	95	5:00	1
3	95	0:10	50
4	59 √	0:20	
√- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам Fam и Hex при 59 °С			

Примечания:

1. Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, концентрации калибровочных образцов, объём реакционной смеси и т.п.) для приборов «ДТпрайм» и «ДТлайт», можно сохранить в виде готового файла «HCVq».
2. При последующих постановках добавьте в протокол тест «HCVq», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции на приборах ДТпрайм, ДТлайт и CFX96 проводится автоматически во время амплификации.

9 АЛГОРИТМ УЧЁТА РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1 Учет и анализ результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2 Вычисление концентрации РНК HCV в образцах плазмы (C_1) проводят по формуле:

$$C1 = C2 * k \qquad (1),$$

C1 – концентрация РНК в исходном образце плазмы;
C2 – концентрация РНК, измеренная программным обеспечением прибора по калибровочной кривой, заданной стандартами СТ1 и СТ2;
k – коэффициент пересчета, рассчитываемый по формуле:

$$k = \frac{V1}{V2} \qquad (2)$$

V1 – объем раствора стандарта СТ, вносимого в отрицательный контрольный образец в ходе процедуры выделения РНК (20 мкл);
V2 – объем плазмы, из которого проводили выделение РНК (1000 мкл или 250 мкл).

ВНИМАНИЕ! Значение коэффициента k для расчёта концентрации:

- При выделении РНК HCV из плазмы объемом 1000 мкл **k = 0,02.**
- При выделении РНК HCV из плазмы объемом 250 мкл **k = 0,08.**
- При вычислении концентрации положительного контрольного образца **k = 0,02**.

Пример вычисления:

1) Концентрация, измеренная программным обеспечением прибора CFX96 (первичные данные), составляет «**2,88E+07**» - значение C2 в формуле (1).

Если выделение РНК проводили из 1000 мкл, то k = 0,02, таким образом, концентрация в исходном образце составляет **$2,88*10^7$ x 0,02 = 576000** МЕ/мл или **5,76E+05** МЕ/мл.

Если выделение РНК проводили из 250 мкл, то k = 0,08, концентрация в исходном образце составляет **$2,88*10^7$ x 0,08 = 2304000** МЕ/мл или **2,30E+06** МЕ/мл.

2) Концентрация, измеренная программным обеспечением прибора ДТпрайм (первичные данные), составляет «**36300000**» - значение C2 в формуле (1).

Если выделение РНК проводили из 1000 мкл, то k = 0,02, концентрация в исходном образце составляет **36300000 x 0,02 = 726000** МЕ/мл или **7,26E+05** МЕ/мл.

Если выделение РНК проводили из 250 мкл, то k = 0,08, концентрация в исходном образце составляет **36300000 x 0,08 = 2904000** МЕ/мл или **2,90E+06** МЕ/мл.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

9.3 В случае смешанных постановок (включающих одновременный анализ проб, выделенных из 1000 мкл и 250 мкл) необходимо выбрать образцы, отличающиеся от стандартного объема выделения (стандартным является выделение РНК HCV из 1000 мкл плазмы).

10 ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Интерпретация результатов исследования осуществляется в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4 – Интерпретация результатов исследования

Канал детекции		**Интерпретация результата**
Fam, в диапазоне, расчётная концентрация МЕ/мл	**Hex,** Ср или Cq	
Анализируемые образцы		
$1{,}0x10^2$ – $5{,}0x10^8$	Не учитывается	Положительный результат с указанием вирусной нагрузки в образце (МЕ/мл)
Менее **100**	Не учитывается	Положительный результат с указанием **«менее 100 МЕ/мл»** (без указания точного значения!)
Более **$5{,}0x10^8$**	Не учитывается	Положительный результат с указанием **«более $5{,}0x10^8$ МЕ/мл»** (без указания точного значения!)
Не указан	≤35	Отрицательный результат, РНК HCV не выявлена
Не указан	>35 либо не указан	Недостоверный результат
Положительный контрольный образец		
$2{,}0x10^4$-$2{,}0x10^{5**}$	Не учитывается	Положительный результат с указанием концентрации РНК в образце (МЕ/мл). Результаты постановки валидны
Отрицательный контрольный образец		
Не указан	≤35	Отрицательный результат (концентрация не указана). Результаты постановки валидны

10.1 Недостоверный результат может быть вызван присутствием ингибиторов в препарате нуклеиновых кислот, полученном из биологического материала; ошибками преаналитического этапа, неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, либо повторное

** – если в положительном контрольном образце определяемая концентрация выходит за рамки диапазона $2{,}0\times10^4$ – $2{,}0\times10^5$ МЕ/мл, необходимо повторить исследование.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

выделение препарата нуклеиновых кислот, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).

10.2 При получении недостоверного результата для положительного контрольного образца (несоответствие положительного контроля заявленному диапазону) результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

10.3 При получении положительного результата на наличие РНК HCV в отрицательном контрольном образце результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

11 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

11.1 Транспортирование

11.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

11.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

11.1.3 Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера до 25 °С не более 5 суток.

11.1.4 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

11.2 Хранение

11.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

11.2.2 Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

11.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11.3 Указания по эксплуатации

11.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

11.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

11.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, ОТ-ПЦР-буфер "V", внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", калибровочные образцы HCV-CT1, HCV-CT2 и положительный контрольный образец следует

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте;

– фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

11.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

12 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

12.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

12.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

13 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

13.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

13.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

14 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

15 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон	REF	Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не допускается воздействие солнечного света
LOT	Серия набора реагентов		Не стерильно
	Дата изготовления		

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

16 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-2019 Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ ISO 17511-2011 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство (СРПП). Медицинские изделия.

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании медицинских изделий, на этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание – Указанные выше стандарты являлись действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документа, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым документом).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

17 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения, и EN ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС» (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская область, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д.3.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов HCV Количественный, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Заместитель генерального директора по науке
ООО «НПФ ДНК-Технология»,
к.б.н. Д.Д. Абрамов
«27» 05 2022г.

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ООО «НПФ «ХЕЛИКС» Ю.В. Андрейчук
«27» 05 2022г.

Общество с ограниченной ответственностью Научно производственная Фирма ХЕЛИКС "HELIX" Ltd Санкт-Петербург

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью 28 листов

Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственная фирма "ХЕЛИКС" "HELIX" Ltd Санкт-Петербург

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU