



### Инструкция

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro  
«Набор реагентов для выявления, идентификации и количественного определения вируса простого Герпеса типа 1 и 2 в образцах ДНК методом ПЦР определения in vitro, выделенных из клинических проб, с детекцией в реальном времени «ВПГ 1.2-ИМБИАН-ПЦР» по ТУ 21.20.23-118-41390295-2021, в исполнениях»

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначен для одновременного выявления, идентификации и количественного определения ДНК вируса простого Герпеса типа 1 и 2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в пробах нуклеиновых кислот (НК), выделенных из клинических образцов (отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, отделяемое конъюнктивы, отделяемое слизистой оболочки ротоглотки, моча, секрет предстательной железы, ликвор, цельная кровь). Набор не имеет градации по демографическому или популяционному признаку

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью выявления носительства возбудителей ИППП HSV type 1 и HSV type 2, а также для оценки эффективности терапии герпес-вирусной инфекции.

**Функциональное назначение** – Набор реагентов «ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР» предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью выявления носительства возбудителей ИППП HSV type 1 и HSV type 2, а также для оценки эффективности терапии герпес-вирусной инфекции.

## 2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА - клиническая лабораторная диагностика.

Показания к применению. Набор реагентов может быть использован в клинической лабораторной диагностике для выявления носительства возбудителей ИППП HSV type 1 и HSV type 2, а также для оценки эффективности терапии герпес-вирусной инфекции.

Полученные результаты не являются основанием для постановки диагноза, а используются только в сочетании с другими лабораторными показателями и диагностической информацией.

### Противопоказания

Отсутствуют

### **Возможные побочные действия**

При использовании медицинского изделия по инструкции по применению побочные действия не выявлены.

Предназначенный пользователь набора - сотрудники клинико-диагностических лабораторий, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку в области ДНК-диагностики.

### **Возможные побочные действия**

При использования медицинского изделия по инструкции по применению побочные действия не выявлены.

Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредственный контакт с организмом пациента (телом человека).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции. Отсутствуют материалы, вступающие в опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

Компоненты набора упакованы в коробку, в которую вложена инструкция по применению.

Методы стерилизации изделия.

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия.

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия.

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

3. **ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА** - сотрудники клинико-диагностических лабораторий, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку в области ДНК-диагностики.

#### 4. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

##### 4.1. Состав набора

Набор «ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР» выпускается в 5 вариантах исполнения.

Варианты исполнения набора различаются степенью готовности реагентов к проведению анализа (нераскапанный, Один шаг, TwoStep)

##### *HSV I-II-PB-120 исследований*

1. Реакционная смесь PB, 960 мкл – 1 пробирка;
2. Таq-полимераза, 50 мкл - 1 пробирка;
3. Разбавитель, 2 мл – 2 пробирки;
4. Положительный контрольный образец, 200 мкл – 1 пробирка.
5. Инструкция – 1 шт.
6. Вкладыш с данными положительного контрольного образца – 1 шт.;

##### *HSV I-II-Один шаг-PB-60 исследований*

1. Амплификационная смесь PB-OS, 28 мкл – 60 пробирок;
2. Разбавитель, 1 мл – 1 пробирка;
3. Положительный контрольный образец, 100 мкл – 1 пробирка.
4. Инструкция – 1 шт.
5. Вкладыш с данными положительного контрольного образца – 1 шт.;

##### *HSV I-II-Один шаг-PB-96 исследований*

1. Амплификационная смесь PB-OS, 28 мкл – 96 пробирок;
2. Разбавитель, 1 мл – 1 пробирка;
3. Положительный контрольный образец, 100 мкл – 1 пробирка.
4. Инструкция – 1 шт.
5. Вкладыш с данными положительного контрольного образца – 1 шт.;

##### *HSV I-II-TwoStep-PB-60 исследований*

1. Реакционная смесь PB-TS, 21 мкл – 60 пробирок;
2. Раствор Таq-полимеразы, 500 мкл- 1 пробирка;
3. Разбавитель, 1 мл – 1 пробирка;
4. Положительный контрольный образец, 100 мкл – 1 пробирка.
5. Инструкция – 1 шт.
6. Вкладыш с данными положительного контрольного образца – 1 шт.;

##### *HSV I-II-TwoStep-PB-96 исследований*

1. Реакционная смесь PB-TS, 21 мкл - 96 пробирок;
2. Раствор Таq-полимеразы, 800 мкл - 1 пробирка;
3. Разбавитель, 1 мл - 1 пробирка -1 мл;
4. Положительный контрольный образец, 100 мкл - 1 пробирка;
5. Инструкция – 1 шт.
6. Вкладыш с данными положительного контрольного образца – 1 шт.;

Набор рассчитан на проведение анализа 60, 96 или 120 образцов, включая контрольные образцы, и последующей флуоресцентной детекции амплифицированного фрагмента ДНК методом гибридизации с зондами «в реальном времени» на адаптированных для этого приборах.

В состав комплектаций набора входят готовые к применению реагенты.

В состав реакционной (амплификационной) смеси входят:

- раствор дНТФ;
- раствор специфичных праймеров;
- ПЦР-буфер;

- флуоресцентные зонды (3 зонда): зонд для специфического фрагмента одного возбудителя содержит флуорофор FAM, зонд для специфического фрагмента второго возбудителя содержит флуорофор ROX, зонд для внутреннего контроля содержит флуорофор HEX.

- праймеры для выявления внутреннего контроля (геномная ДНК человека); внутренний контроль позволяет контролировать процесс прохождения реакции амплификации, а также тестировать наличие в пробах веществ, ингибирующих полимеразную цепную реакцию и качество выделения ДНК.

Амплификационная смесь комплектаций **Один шаг** полностью готова к амплификации, содержит Taq-полимеразу;

Реакционная смесь комплектаций **TwoStep** требует внесения Taq-полимеразы, входящей в состав комплекта.

**ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬНЫЙ ОБРАЗЕЦ** представляет собой **количественно охарактеризованную смесь калибраторов** (плазмиды со встроенной вставкой специфических фрагментов геномов возбудителей ИППП и человека) в диапазоне  $5 \cdot 10^6$ - $5 \cdot 10^4$  ГЭ/мл. **Во вкладыше к каждой серии набора реагентов указана точная концентрация соответствующего калибратора в положительном контрольном образце**, а также диапазон допустимых значений циклов пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией (Ct) для положительного контрольного образца на различных типах амплификаторов.

## 4.2. Принцип метода

Набор реагентов **ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР** основан на использовании метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения специфических участков *ДНК HSV type 1* и *HSV type 2* путем накопления (амплификации) специфических фрагментов.

В результате многократно повторяющихся циклов синтеза новых цепей ДНК, гомологичных специфической области ДНК-мишени, происходит накопление фрагментов ДНК в количестве, достаточном для детекции.

Гибридизационно-флуоресцентная детекция позволяет проводить регистрацию продуктов амплификации в процессе реакции («в реальном времени»). Детекция продуктов амплификации проводится в реакционном растворе. Олигонуклеотидный зонд, несущий флуоресцентную метку, специфически гибридизуется с ампликоном. В ходе последующей элонгации происходит разрушение зонда и высвобождение флуоресцентной метки в раствор, что делает возможным её регистрацию на флуоресцентном детекторе. При проведении регистрации продуктов амплификации в процессе реакции («в реальном времени») измерения проводятся в каждом цикле амплификации. С использованием специально подобранных настроек анализирующая программа автоматически рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией (Cycle threshold, Ct). Значение Ct обратно пропорционально концентрации ДНК в образце. Возможность количественного определения *ДНК HSV type 1* и *ДНК HSV type 2* в режиме «реального времени» основывается на существовании зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (Ct).

В идеальном случае на каждом температурном цикле реакции количество нарабатываемой ДНК удваивается, т. е. количество продуктов реакции на цикле  $n$  равно начальному числу молекул, умноженному на  $2^n$ :

$$N_n = N_0 2^n$$

где  $n$  - номер цикла реакции;  $N_0$  - количество целевых молекул в начале реакции (на первом



цикле);  $N_n$  - количество продуктов реакции на цикле  $n$ ; 2 - эффективность реакции (в оптимальных условиях эффективность ПЦР действительно близка к 2).

Для проведения количественного теста амплификацию ДНК из исследуемых образцов проводят одновременно с положительным контрольным образцом с известной концентрацией ДНК- мишени.

Для сравнения графиков, полученных при проведении ПЦР «в реальном времени», используют один из двух основных подходов к анализу результатов: пороговый метод (определение значения порогового цикла реакции  $C_t$ , как точки пересечения графика накопления ДНК и пороговой линии) или метод прямого сравнения графиков (определение значения некоторой точки  $C_p$ , crossing point, на графике накопления ДНК по форме кривой, например - метод максимума второй производной). Оба подхода предполагают нахождение некоторого значения на оси абсцисс (дробного значения цикла реакции), характеризующего данную кривую (найденное значение обычно обозначают как  $C_t$  в случае пороговых методов или  $C_p$  для методов, использующих анализ формы кривой). Полученные значения используют далее при сопоставлении результатов ПЦР для разных образцов. Суть порогового метода заключается в том, чтобы определить момент  $C_t$  (выраженный в циклах ПЦР), когда количество ДНК в реакционной пробирке (а, следовательно, и флуоресцентный сигнал) достигает одинаковой для всех образцов пороговой величины (задается пользователем или программным обеспечением). Сравнивая полученные значения  $C_t$ , можно судить о начальных концентрациях ДНК в исследуемых образцах. Чем меньше  $C_t$ , (т. е. чем быстрее количество ДНК в данном образце достигло пороговой величины), тем больше было в нем целевой ДНК в начальный момент времени. Зная пороговый цикл  $C_t$  для положительного контрольного образца (ПКО) с известной начальной концентрацией  $C_{пко}$  можно вычислить относительную начальную концентрацию неизвестных образцов.

Формулы для расчета концентрации ДНК в анализируемом образце представлены в п. 11.3.

**4.3. Метрологическая прослеживаемость** значений концентрации калибраторов, входящих в состав ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬНЫЙ ОБРАЗЕЦ, проведена до уровня контрольных образцов предприятия (калибраторы первого порядка), изготовленных из геномной ДНК *HSV type 1* и *HSV type 2*. **Коммутабельность контрольных образцов** предприятия подтверждена результатами измерения концентрации ДНК референтной и рутинной методиками, предназначенными для измерения показателей концентрации при количественном исследовании ДНК, выделенной из соответствующих клинических образцов (ГОСТ ISO 17511).

#### 4.4. Ограничения метода

При наличии мутаций в анализируемой области генома, вследствие ухудшения гибридизации праймеров или зондов с ДНК, могут наблюдаться ложноотрицательные реакции, а также занижение реального содержания ДНК возбудителя в клиническом образце.

### 5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

#### 5.1. Аналитическая специфичность

Специфичность определяется олигонуклеотидными затравками (праймерами), подобранными к гомологичным участкам видоспецифичных генов возбудителей, а также специфичными флуоресцентными олигонуклеотидными зондами для гибридизации с комплементарными участками ампликонов (специфических продуктов амплификации), что исключает перекрестные реакции с близкородственными микроорганизмами и другими инфекционными возбудителями.

Аналитическая специфичность набора реагентов, т.е. способность выявлять только ДНК *HSV type 1* и *HSV type 2*, вне зависимости от присутствия в анализируемом образце НК других возбудителей ИППП, доказана производителем при исследовании ДНК следующих микроорганизмов: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Gardnerella vaginalis*,

*Lactobacillus crispatus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria subflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, *HSV 1* и *2* типа, *CMV*, *HPV* (типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59), а также геномной ДНК человека в диапазоне концентраций  $10^4$ - $10^6$  ГЭ/мл. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты выявлены не были. Специфичность, рассчитанная как частота ложноположительных результатов для отрицательных проб на целевой маркер, составила 100%.

## 5.2. Аналитическая чувствительность

С помощью набора ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР можно обнаружить:

- $1 \times 10^3$  и более геном-эквивалентов/мл *HSV type 1* в прошедшей обработку (выделение ДНК) пробе;
- $1 \times 10^3$  и более геном-эквивалентов/мл *HSV type 2* в прошедшей обработку (выделение ДНК) пробе.

## 5.3. Тест на прецизионность

Тест на прецизионность характеризуется рассеянием значений измеренных концентраций, получаемых при использовании набора относительно величины средней концентрации. Для образцов с концентрацией  $10^5$  геном-эквивалентов/мл для *HSV type 1* и *HSV type 2* коэффициент вариации составляет не более 10%.

## 5.4. Тест на правильность определения концентрации

Тест на правильность определения - при детекции образцов с концентрациями  $2 \times 10^7$ ,  $2 \times 10^5$  и  $2 \times 10^3$  геном-эквивалентов/мл для *HSV type 1* и *HSV type 2* процент отклонения измеренной концентрации от значения, принимаемого за истинное, находится в диапазоне 90-110%.

## 5.5. Диапазон линейности

Диапазон линейности — это диапазон концентраций, при детекции которых зависимость между значениями *Ct* и *log* концентрации удовлетворяет линейной модели. Модуль коэффициента корреляции для образцов с концентрациями  $2 \times 10^7$ ,  $2 \times 10^5$  и  $2 \times 10^3$  геном-эквивалентов/мл для *HSV type 1* и *HSV type 2* составляет не менее 0,99. Таким образом, диапазон линейности составляет от  $2 \times 10^7$  до  $2 \times 10^3$  геном-эквивалентов/мл для *HSV type 1* и *HSV type 2*.

# 6. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

В ходе клинических испытаний Набора было проведено исследование 1737 образцов клинического материала, включая:

462 образца, отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта (отделяемое слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала и соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры),

230 образцов отделяемого конъюнктивы,

297 образцов отделяемого ротоглотки,

347 образцов мочи,

107 образцов секрета предстательной железы,

81 образец ликвора,

213 образцов цельной крови.

## 6.1 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность определялась как доля, выраженная в %, истинно

положительных результатов ко всем получившимся положительными, включая ложноположительные и составила 100%. Для расчета нижней границы интервала, в котором находится «истинное» значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью  $C = 95\%$  использовалась следующая формула:

$$(1-C/100)^{1/n} \cdot 100\%, \text{ где:}$$

$n$  - общее число исследуемых проб с истинно положительными результатами анализа, подтвержденные с помощью набора сравнения,

$C$  - доверительная вероятность, в данном исследовании принята равной 95%. (см. Таблицу 1).

## 6.2. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность определялась как доля, выраженная в %, истинно отрицательных ко всем получившимся отрицательными и составила 100%. Для расчета нижней границы интервала, в котором находится «истинное» значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью  $C = 95\%$  использовалась следующая формула:

$$(1-C/100)^{1/n} \cdot 100\%, \text{ где:}$$

$n$  - общее число исследуемых проб с истинно положительными результатами анализа, подтвержденные с помощью набора сравнения,

$C$  - доверительная вероятность, в данном исследовании принята равной 95%.

Показатели диагностических характеристик для разных видов клинических образцов соответствуют значениям, приведенным в таблице 1.

Таблица 1

| Клинический материал                                 | Возбудитель | Результаты испытаний             |                               |
|------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------|-------------------------------|
|                                                      |             | Диагностическая чувствительность | Диагностическая специфичность |
| Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 94.8-100%)         | 100% (95% ЛИ: 99.3-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 98.6-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.8-100%)      |
| Отделяемое конъюнктивы                               | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 96.5-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.0-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 92.2-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.5-100%)      |
| Отделяемое слизистой оболочки ротоглотки             | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 97.3-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.4-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 90.8-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.9-100%)      |
| Моча                                                 | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 97.6-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.7-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 96.4-100%)         | 100% (95% ЛИ: 98.9-100%)      |
| Секрет предстательной железы                         | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 92.2-100%)         | 100% (95% ЛИ: 95.8-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 91.8-100%)         | 100% (95% ЛИ: 95.9-100%)      |
| Ликвор*                                              | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 54.9-100%)         | 100% (95% ЛИ: 96.1-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 68,8-100%)         | 100% (95% ЛИ: 96.0-100%)      |
| Цельная кровь                                        | ВПГ 1       | 100% (95% ЛИ: 96.9-100%)         | 100% (95% ЛИ: 97.5-100%)      |
|                                                      | ВПГ 2       | 100% (95% ЛИ: 96.5-100%)         | 100% (95% ЛИ: 97.7-100%)      |



\* Нижняя граница интервала определена на небольшой выборке образцов в связи с их редкой встречаемостью.

### 6.3. Корреляция результатов

Проведённый анализ полученных в клинических испытаниях данных выявил высокую степень корреляции результатов измерения концентрации ДНК ВПГ 1 и 2 типа, полученных с помощью набора реагентов «ДИПЛЕКС HSV 1+II» и «ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР». Разница между значениями не превышала 0,5lg в 93,9 % случаев для ВПГ 1 и 95,1 % для ВПГ 2.

Превышение разницы результатами не превышала 1,1 lg. Рассчитанный коэффициент Спирмена составил от 0,93 ( $p < 0,001$ ) до 0,99 ( $p < 0,001$ ), что говорит о высокой степени корреляции.

## 7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора класс 26.

### 7.1. Требования безопасности при работе с набором

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярнобиологические биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и 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».

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
- убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
- удалять неиспользованные реактивы 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 населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

**ВНИМАНИЕ!** При удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- допускать к работе с набором только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.
- не использовать набор по истечении срока годности.
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21



«Сани-тарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, пред-стерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## 7.2 Требования охраны окружающей среды

7.2.1. Набор реагентов не содержит веществ и материалов, требующих обеспечения специальных мер безопасности, и не представляет опасности для людей в течение всего срока годности. В том числе в случае отклонений в функционировании медицинского изделия, включая определяемые по внешним признакам.

7.2.2. Набор реагентов не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады,

влажность и температура воздуха.

7.2.3. Набор реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав набора не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

7.2.4. Все компоненты набора нетоксичны для человека в используемых концентрациях. Реагенты, входящие в состав набора, безопасны для окружающей среды, не содержат цианид и азид натрия, а также другие вредные вещества.

7.2.5. Набор реагентов не содержит: лекарственных средств для медицинского применения,

материалов животного и (или) человеческого происхождения, материалов, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

## 8. ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Амплификатор детектирующий ДТ-96, производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2007/01250)
- Пцр бокс с УФ-лампой
- пипетки-дозаторы переменного объёма со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 0,5-10; 5-50; 20-200; 100-1000 мкл
- одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) до 10; 100; 200; 1000 мкл
- холодильник с морозильной камерой для хранения исходных реагентов
- перчатки резиновые или пластиковые одноразовые
- бесцветные одноразовые полипропиленовые микропробирки вместимостью 0,2 мл для амплификации

### Набор для выделения:

- 1)- Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБАНК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 (ФСР 2010/08867 от 13.10.2016) производства ООО «НПО ДНК-Технология»
- 2) Комплект реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ФСР 2012/14019 от 06.09.2013 года) производства ООО «НекстБио»

## 9. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

### 9.1. Материал для исследования.

Материалом для исследования набором реагентов ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР являются образцы ДНК, выделенные из клинических проб (отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, отделяемое конъюнктивы, отделяемое слизистой оболочки

ротоглотки, моча, секрет предстательной железы, ликвор, цельная кровь).

## **9.2. Взятие, доставка и хранение клинических образцов**

Взятие материала осуществляется одноразовым стерильным зондом.

За 10 дней до взятия материала на исследование необходимо прекратить прием химиопрепаратов и лечебные процедуры. Присутствие в исследуемом материале большого количества слизи и примеси крови могут привести как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам.

### Особенности взятия материала из уретры.

- перед взятием материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1, 5–2 часов;
- непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры необходимо обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором;
- при наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15–20 минут после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия материала;
- у женщин перед введением зонда в уретру проводится ее массаж о лобковое сочленение;
- в уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0–1,5 см, у мужчин - на 3–4 см и затем совершается несколько вращательных движений; у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.

После взятия материала зонд опускается в пробирку с транспортной средой согласно инструкции производителя. Если транспортная среда не предусмотрена, то взятие материала производят в 1 мл стерильного физиологического раствора, помещенного в полипропиленовую пробирку емкостью 1,5 мл с защелкивающейся крышкой. После внесения зонда он несколько раз ротируется, а затем удаляется из пробирки. Пробирка закрывается и маркируется. Транспортировка клинического материала должна производиться только в сумке-холодильнике с хладэлементами в течение суток, заморозка клинического материала недопустима.

### Особенности взятия материала из цервикального канала.

- перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором;
- зонд вводится в цервикальный канал на глубину 0,5–1,5 см;
- при наличии эрозий цервикального канала необходимо их обработать стерильным физиологическим раствором, и материал следует брать на границе здоровой и измененной ткани;
- при извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание со стенками влагалища.

После взятия материала зонд опускается в пробирку с транспортной средой согласно инструкции производителя. Если транспортная среда не предусмотрена, то взятие материала производят в 1 мл стерильного физиологического раствора, помещенного в полипропиленовую пробирку емкостью 1,5 мл с защелкивающейся крышкой. После внесения зонда он несколько раз ротируется, а затем удаляется из пробирки. Пробирка закрывается и маркируется. Транспортировка клинического материала должна производиться только в сумке-холодильнике с хладэлементами в течение суток, заморозка клинического материала недопустима.

### Особенности взятия материала с конъюнктивы глаз.

При наличии обильного гнойного отделяемого его убирают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологически раствором.

Соскоб берут с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. При взятии соскоба необходимо придерживать веко руками, чтобы при моргании ресницы не касались зонда.

#### Особенности взятия материала с задней стенки глотки.

Одноразовый зонд вводят за мягкое небо в носоглотку и проводят по задней стенке глотки.

#### Особенности взятия (сбора) мочи.

Мочу собирают утром натощак после сна или не ранее чем через 2–3 часа после последнего мочеиспускания.

При сборе мочи желательно использовать специальный контейнер для сбора мочи. Минимальный объем мочи необходимый для проведения анализа составляет 20 мл.

Если в лабораторию доставляется не вся собранная моча, то перед тем, как часть мочи сливается в посуду для транспортировки, ее необходимо тщательно взболтать.

Собранную мочу доставляют в лабораторию в течение 1–3 часов без дополнительного охлаждения. Длительное хранение мочи при комнатной температуре до исследования приводит к изменению не только ее физических свойств и к разрушению клеток, но и к размножению бактерий.

#### Особенности взятия секрета предстательной железы.

Перед взятием секрета простаты головка полового члена обрабатывается стерильным ватным тампоном, смоченным физиологически раствором. Секрет простаты берется после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. Затем из кавернозной части выдавливается простатический секрет, который собирается в стерильную емкость (сосуды с широким горлом, пробирки). После взятия секрета простаты он должен быть доставлен в лабораторию в течение 1–3 часов. Транспортировка биологического материала должна производиться только в сумке-холодильнике.

#### Особенности взятия ликвора.

Ликвор получают путем прокола поясничной, субокципитальной области или мозговых желудочков одноразовыми пункционными иглами. Переносят 1,0 мл ликвора в одноразовую стерильную пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл.

#### Особенности взятия цельной крови.

500 мкл венозной крови собрать в одноразовую пластиковую пробирку с 50 мкл раствора антикоагулянта (0,05М раствор ЭДГА или 4% раствор цитрата натрия. ГЕПАРИН ИСПОЛЬЗОВАТЬ НЕЛЬЗЯ!).

При использовании системы вакуумного забора крови используются вакутейнеры с фиолетовой крышкой (с ЭДГА) или голубой (цитрат натрия).

### **9.3. Предварительная обработка клинического материала**

Обработка клинического материала для выделения ДНК, а также его хранение производится согласно инструкции производителя набора для выделения ДНК из клинического материала.

Для подготовки образцов ДНК могут быть использованы любые зарегистрированные на территории РФ реагенты, предназначенные для выделения нуклеиновых кислот (ДНК) из клинического материала (отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, отделяемое конъюнктивы, отделяемое слизистой оболочки ротоглотки, моча, секрет



предстательной железы, ликвор, цельная кровь) для ГЦР-диагностики. Предпочтение следует отдавать наборам реагентов для пробоподготовки с сорбентной очисткой нуклеиновых кислот, позволяющим максимально удалить ингибиторы ПЦР из образца, например: «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБАНК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в двух формах комплектации: комплект ПРОБА-НК и комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС (ФСР 2010/08867 от 13.10.2016 года)»; Комплект реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиИрайм ДНК-сорб-В» (ФСР 2012/14019 от 06.09.2013 года)».

#### 9.4. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой

Материалом для исследования набором реагентов **ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР** являются образцы ДНК, выделенные из клинических проб. Анализ рисков показал, что возможными ошибками применения набора реагентов **ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР** могут являться:

- использование непредусмотренных для данного изделия видов анализируемого биологического материала или наборов для пробоподготовки (выделение ДНК);
- интерферирующие вещества, входящие в состав клинического материала (например, избыточное количество примесей в виде слизи, крови, гноя в образцах отделяемого слизистых оболочек);
- использование для проведения ПЦР-исследования образцов ДНК, содержащих избыточное количество НК, в первую очередь, геномной ДНК человека в концентрации более 100 мкг/мл).

Все это может приводить к ингибированию реакции амплификации, снижению чувствительности анализа и получению ложноотрицательных результатов. Для контроля качества тестируемой ДНК и присутствия возможных ингибиторов в наборе реагентов **ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР** предусмотрено тестирование внутреннего контрольного образца (ВКО) с помощью специальных праймеров, входящих в состав реакционной (амплификационной) смеси (см. п. 4.1 Инструкции). По окончании реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов ДНК ВКО, говорит о хорошем качестве тестируемого образца нуклеиновых кислот. Отсутствие сигнала ВКО после проведения ПЦР свидетельствует о ненадлежащем качестве образца для исследования и требует повторной пробоподготовки.

- Концентрация интерферирующих веществ, не влияющих на эффективность набора реагентов **ВПГ1,2-ИМБИАН-ПЦР**

| Образец                                              | интерферент | Допустимое содержание в образце |
|------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------|
| Отделяемое слизистых оболочек уrogenитального тракта | Кровь       | 10%                             |
|                                                      | Слизь       | 20%                             |
|                                                      | Гной        | 25%                             |
|                                                      | Жиры        | 30%                             |
| Отделяемое посоглотки и конъюнктивы                  | Кровь       | 10%                             |
| Моча                                                 | Гемоглобин  | 7,5 мг/л                        |
| Секрет предстательной железы                         | Кровь       | 10%                             |

## 10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА<sup>1</sup>

### 10.1. Подготовка к проведению амплификации, вариант исполнения HSV I-II-PB-120 исследований

10.1.1. Приготовить необходимое число бесцветных пробирок вместимостью 0,2 мл, включая пробирки для положительного и отрицательного контрольных образцов.

10.1.2. Полностью разморозить компоненты из набора. Пробирки с реакционной смесью-РВ и разбавителем тщательно перемешать.



10.1.3. Из компонентов набора приготовить смесь из расчета на 1 образец (табл.2):

Таблица 2

| Компонент            | Количество (мкл) |
|----------------------|------------------|
| Разбавитель          | 21               |
| Реакционная смесь-PB | 7                |
| Taq-полимераза       | 0,3              |

*Рекомендуется готовить смесь реагентов не менее чем на 5 реакций. При приготовлении смеси необходимо все компоненты добавлять отдельными наконечниками.*

10.1.4. Перемешать амплификационную смесь пипетированием или импульсным вортексированием в течение 10 секунд.

10.1.5. Внести в приготовленные пробирки по 28 мкл полученной амплификационной смеси.

Перейти к пункту 10.4.

## **10.2. Подготовка к проведению амплификации, варианты исполнения HSV**

**HSV I-II -Один шаг-PB-60 исследований, HSV I-II-Один шаг-PB-96 исследований**

Данная комплектация не требует предварительной подготовки реагентов и представляет собой полностью готовую амплификационную смесь PB-OS, содержащую Taq-полимеразу и расфасованную в пробирки для проведения реакции.

10.2.1. Достать из коробки и промаркировать необходимое число пробирок, включая пробирки для ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬНЫЙ ОБРАЗЕЦ и отрицательного контрольного образца.

10.2.2. Полностью разморозить содержимое пробирок.

*При необходимости, если часть раствора находится на внутренней стороне крышки пробирки, отцентрифугировать пробирки 3–5 сек. на микроцентрифуге-вортексе.*

## **10.3. Подготовка к проведению амплификации, варианты исполнения**

**HSV I-II-TwoStep-PB-60 исследований, HSV I-II-TwoStep-PB-96 исследований**

10.3.1. Достать набор из холодильника, подготовить и пронумеровать необходимое количество пробирок с реакционной смесью PB-TS, включая пробирки для положительного и отрицательного контрольных образцов.

10.3.2. Пробирку с Раствором Taq-полимеразы перемешать пипетированием или импульсным вортексированием в течение 10 секунд.

10.2.3. Добавить во все пробирки по 7 мкл Раствора Taq-полимеразы.

Перейти к пункту 10.4.

*При необходимости, если часть раствора находится на внутренней стороне крышки пробирки, отцентрифугировать пробирки 3–5 сек. на микроцентрифуге-вортексе.*

## **10.4. Проведение амплификации, все варианты комплектаций.**

10.4.1. В пробирки с амплификационной смесью добавить индивидуальными наконечниками саэррозольными фильтрами образцы в объеме 7 мкл:

а) в пробирку отрицательного контрольного образца - разбавитель:

б) в пробирки исследуемых образцов - исследуемые образцы ДНК;

в) в пробирки положительного контрольного образца – положительный контрольный образец

Для снижения риска контаминации образцы следует добавлять в указанном порядке. Пробирку, в которую был внесен образец, следует, по возможности, немедленно закрывать крышкой.

10.4.2. Пробирки закрыть и центрифугировать в течение 3–5 секунд на микроцентрифуге-вортексе.

10.4.3. Перенести пробирки в амплификатор с детекцией результатов «в режиме реального времени» и провести амплификацию по следующим программам (ниже представлены программы амплификации для комплектаций TwoStep для различных видов амплификаторов):

|        |                                              |           |
|--------|----------------------------------------------|-----------|
| +80 °C | 2 мин*                                       |           |
| +94 °C | 1 мин 30 сек                                 |           |
| +94 °C | 10 сек                                       | 40 циклов |
| +62 °C | 30 сек (считывание по каналам FAM, HEX, ROX) |           |
| +72 °C | 20 сек                                       |           |

\* - для комплектаций HSV I-II-PB-120 исследований, HSV I-II-Один шаг-PB-60 исследований и HSV I-II-Один шаг-PB-96 исследований раздел программы +80 °C -2 мин необязателен.

## 11. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 11.1 Детекция результатов

Детекция продуктов амплификации «в реальном времени» осуществляется прибором автоматически в каждом цикле амплификации. На основании этих данных управляющая программа строит кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому из заданных для образцов каналов.

При проведении ПЦР с детекцией результатов «в режиме реального времени» измерения проводятся в каждом цикле амплификации.

Настройки для анализа результатов, полученных с помощью набора, представлены в таблице 3 на примере амплификатора с детекцией в режиме «реального времени» ДТ-96 (ДНК-технология, Россия).

Таблица 3

| Флуорофор | Возбудитель  | Пороговая линия | Конечный цикл (КЦ) |
|-----------|--------------|-----------------|--------------------|
| HEX       | ДНК человека | 20              | 35                 |
| FAM       | HSV type 1   | 100             | 35                 |
| ROX       | HSV type 2   | 20              | 35                 |

С использованием этих настроек анализирующая программа автоматически рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией. Отсутствие значения для образца (значение НЗ) означает, что пересечения кривой накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией не было. Все имеющиеся значения сравниваются с соответствующим значением конечного цикла (КЦ). Ситуация, когда значение больше конечного цикла, равносильна отсутствию значения.

Анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией по применению программного обеспечения прибора.

### 11.2. Интерпретация результатов

Интерпретация результатов анализа с целью выявления и идентификации ДНК HSV type 1 и HSV type 2 проводится в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4

|                                   | Ct FAM      | Ct ROX      | Ct HEX      | Результат                                                                      |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Положительный контрольный образец | 22-28*      | 22-28*      | 22-28*      | Реакция прошла                                                                 |
|                                   | НЗ или > КЦ | НЗ или > КЦ | НЗ или > КЦ | Реакция не прошла.<br><b>ТРЕБУЕТСЯ</b> повтор постановки.                      |
| к-                                | НЗ или > КЦ | НЗ или > КЦ | любой       | Специфическая контаминация отсутствует.                                        |
|                                   | <КЦ         | <КЦ         | любой       | Специфическая контаминация.<br><b>ТРЕБУЕТСЯ</b> повтор постановки.             |
|                                   | НЗ или > КЦ | НЗ или > КЦ | <КЦ         | Контаминация геномной ДНК человека.<br>Повтор постановки <b>НЕ ТРЕБУЕТСЯ</b> . |
| Исследуемый образец               | <КЦ         | <КЦ         | <КЦ         | ПРИСУТСТВИЕ ДНК двух возбудителя.                                              |
|                                   | <КЦ         | НЗ или > КЦ | <КЦ         | ПРИСУТСТВИЕ ДНК <i>HSV type 1</i>                                              |
|                                   | НЗ или > КЦ | <КЦ         | <КЦ         | ПРИСУТСТВИЕ ДНК <i>HSV type 2</i>                                              |
|                                   | НЗ или > КЦ | НЗ или > КЦ | <КЦ         | ОТСУТСТВИЕ ДНК соответствующего возбудителя.                                   |

\* точный диапазон значений указан во вкладыше к набору реагентов.

### 11.3. Расчет концентрации ДНК в анализируемом образце

**Внимание!** Надежными можно считать концентрации только тех образцов, значения Ct для которых лежат в указанном диапазоне линейности.

Рассчитать концентрацию ДНК *HSV type 1*, *HSV type 2* и - при необходимости - ДНК человека в образце по формуле:

$$C_{\text{образца}} = C_{\text{КО}} \cdot 2^{(Ct_{\text{КО}} - Ct_{\text{образца}})}$$

$C_{\text{образца}}$  - концентрация ДНК возбудителя (или человека) в исследуемом образце, выраженная в эквивалентах/мл (представлена во вкладыше к набору);

$C_{\text{КО}}$  - концентрация соответствующего калибратора в положительном контрольном образце;

$Ct_{\text{образца}}$  - пересечения кривой флуоресценции исследуемого образца с пороговой линией;

$Ct_{\text{КО}}$  - цикл пересечения кривой флуоресценции соответствующего калибратора в составе положительного контрольного образца с пороговой линией.

Концентрация ДНК возбудителя может также нормироваться на количество ДНК человека, присутствующее в образце, таким образом вводится поправка на погрешности, связанные с забором материала. При этом концентрация ДНК *HSV type 1* из расчёта на  $10^5$  клеток человека вычисляется по формуле:

$$\frac{C_{\text{ГЭ/мл ДНК HSV type 1}}}{C_{\text{ГЭ/мл ДНК человека}}} \cdot 100000,$$

концентрация ДНК *HSV type 2* из расчёта на  $10^5$  клеток человека вычисляется по формуле:

$$\frac{C_{\text{ГЭ/мл ДНК HSV type 2}}}{C_{\text{ГЭ/мл ДНК человека}}} \cdot 100000$$

$C_{\text{ГЭ/мл ДНК HSV type 1}}$  - вычисленная концентрация ДНК *HSV type 1* в образце  $C_{\text{ГЭ/мл ДНК HSV type 2}}$  - вычисленная концентрация ДНК *HSV type 2* в образце  $C_{\text{ГЭ/мл ДНК человека}}$  -

## 12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

### 12.1. Условия хранения

Набор HSV I-II-PB-120-исследований должен храниться при температуре минус 18-20°C в течение всего срока годности. Срок годности комплектов - 12 месяцев.

Набор HSV I-II в вариантах исполнения TwoStep-PB-60-исследований, TwoStep-PB-96-исследований, должен храниться при температуре плюс 2-8°C в течение всего срока годности. Срок годности комплектов - 9 месяцев.

Набор HSV I-II в вариантах исполнения Один шаг-PB-60-исследований, Один шаг-PB-96-исследований должен храниться при температуре минус 18-20°C в течение всего срока годности. Срок годности комплектов - 4 месяца.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

### 12.2. Транспортирование

Набор реагентов «ВПГ1.2-ИМБИАН-ПЦР» транспортируют всеми видами транспорта (в закрытых железнодорожных вагонах, в отопляемых герметичных отсеках самолетов и автомобильным транспортом, (условия транспортирования соответствуют условиям хранения) по правилам перевозок грузов соответствующих транспортных ведомств. Для набора реагентов HSV I-II-PB-120 исследований допустима транспортировка при температуре от плюс 2 до 8 °C в течение 5 дней (не более).

Для набора реагентов HSV I-II-Один шаг-PB-60 исследований, HSV I-II-Один шаг-PB-96 исследований допустима транспортировка при температуре от плюс 18 до 25 °C в течение 3 дней (не более).

Для набора реагентов HSV I-II-TwoStep-PB-60 исследований, HSV I-II-TwoStep-PB-96 исследований допустима транспортировка при температуре от плюс 2 до 8 °C в течение 1 суток (не более), либо в пенопластовых контейнерах с сухим льдом в течение 3 суток.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

## 13. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА НАБОРА

Предприятие-изготовитель проводит приемочные испытания для каждой производственной серии, осуществляя верификационный контроль основных аналитических характеристик (технические характеристики), внешний вид, комплектность, упаковку, маркировку, а также контроль качества сырья и компонентов.

### 13.1. Контроль внешнего вида компонентов

Внешний вид компонентов набора должен соответствовать характеристикам, представленным в технической документации. Внешний вид компонентов представлен в таблице 5

Таблица 5

|                                           |                                                                     |
|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| 1.1 Реакционная смесь PB, 960 мкл         | Прозрачная жидкость розоватого цвета                                |
| 1.2. Реакционная смесь PB-TS, 21 мкл      | Прозрачная бесцветная жидкость под пробкой белого цвета             |
| 1.3. Амплификационная смесь PB-OS, 28 мкл | Прозрачная бесцветная жидкость под слоем вязкой прозрачной жидкости |
| 1.4. Taq-полимераза, 50 мкл               | Прозрачная бесцветная вязкая жидкость                               |
| 1.5. Раствор Taq-полимеразы, 500, 800 мкл | Прозрачная бесцветная вязкая жидкость                               |
| 1.6. Разбавитель 1 мл, 2 мл               | Прозрачная бесцветная жидкость                                      |
| 1.7. Положительный контрольный            | Прозрачная бесцветная жидкость                                      |



### 13.2. Контроль аналитической чувствительности набора

#### 13.2.1. Образцы, необходимые для проведения контроля.

Для определения аналитической чувствительности следует приготовить три образца КОЧ (образец чувствительности).

Для приготовления КОЧ HSVI (*HSV type 1*) необходимо развести положительный контрольный образец в разбавителе до концентрации  $1 \cdot 10^3$  ГЭ/мл, исходя из концентрации, указанной во вкладыше к набору.

Для приготовления КОЧ HSVII (*HSV type 2*) необходимо развести положительный контрольный образец в разбавителе до концентрации  $1 \cdot 10^3$  ГЭ/мл, исходя из концентрации, указанной во вкладыше к набору.

Для приготовления КОЧ ВК (Внутренний контроль, ДНК человека) необходимо развести положительный контрольный образец в разбавителе до концентрации  $1 \cdot 10^3$  ГЭ/мл, исходя из концентрации, указанной во вкладыше к набору.

При выполнении разведений необходимо соблюдать два правила:

- 1) не следует одновременно разводить образец более, чем в 10 раз,
- 2) объём отбираемой из образца аликвоты для разведения не должен быть меньше 5 мкл.

Например, для приготовления КОЧ HSVI из ПКО с концентрацией  $1 \cdot 10^6$  ГЭ/мл необходимо подготовить три пробирки вместимостью 0,5 мл, внести в них по 45 мкл разбавителя. Добавить в первую пробирку 5 мкл ПКО, перемешать 10 секунд на вортексе, центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе для сброса капель. Внести во вторую пробирку 5 мкл из первой пробирки, перемешать 10 секунд на вортексе, центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе для сброса капель. Внести в третью пробирку 5 мкл из второй пробирки, перемешать 10 секунд на вортексе, центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе для сброса капель. Содержимое третьей пробирки использовать в качестве матрицы для анализа.

#### 13.2.2. Проведение анализа

Провести ПЦР-амплификацию образцов КОЧ HSVI, КОЧ HSVII, КОЧ ВКО и положительный контрольный образец в соответствии с протоколом, описанным в разделе 10 данной инструкции для соответствующих вариантов исполнения набора.

13.2.3. Учет и анализ результатов провести в соответствии с протоколом, представленным в пунктах 11 данной инструкции.

При проведении ПЦР с детекцией результатов «в режиме реального времени» аналитическая чувствительность считается подтвержденной, если результаты анализа соответствуют данным Таблицы 6.

### 13.3 Результат контроля

Во всех случаях несоответствия получаемых результатов данным таблицы 6 реагенты признаются непригодными к использованию. При этом осуществляется их полная замена и повторное исследование контрольных образцов до получения положительного результата контрольных испытаний.

Таблица 6

|                                   | Ct FAM<br>(HSV type 1)                                                                         | Ct ROX (HSV type 2) | Ct HEX (ДНК человека) |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Положительный контрольный образец | Значение Ct должно определяться в диапазоне значений, указанном во вкладыше к набору реагентов |                     |                       |
| К-                                | НД или > КЦ                                                                                    | НД или > КЦ         | НД или > КЦ           |
| КОЧ HSVI                          | <КЦ                                                                                            | любой               | любой                 |
| КОЧ HSVII                         | любой                                                                                          | <КЦ                 | любой                 |
| КОЧ ВК                            | любой                                                                                          | любой               | <КЦ                   |

#### 14. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов набора, наборов реагентов с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом

раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клинично-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3-4 групп патогенности, образцы материала после пробоподготовки (выделение ДЦК) и отходы после проведения амплификации относятся к классу Б (эпидемически опасные отходы).

Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции) /обезвреживанию.

Выбор метода обеззараживания/ обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и выполняется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

#### 15. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия, следует обращаться в ООО «ИМБИАН ЛАБ» по адресу: 630559, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2., телефон/факс: 8-800-600-90-77, или e-mail: [info@imbian.ru](mailto:info@imbian.ru)

## СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

| Символ                                                                              | Наименование                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|    | Изготовитель                                              |
|    | Дата изготовления                                         |
|    | использовать до...                                        |
|    | температурный диапазон                                    |
|    | обратитесь к инструкции по применению                     |
|    | код партии                                                |
|    | Беречь от влаги                                           |
|    | Вверх                                                     |
|  | Хрупкое, обращаться осторожно                             |
|  | Бережное обращение                                        |
|  | Запрет на повторное применение                            |
|  | медицинское изделие для диагностики in vitro              |
|  | осторожно! обратитесь к инструкции по применению          |
|  | Нестерильно                                               |
|  | номер по каталогу                                         |
|  | содержимое достаточно для проведения n- количества тестов |
|  | Не использовать при поврежденной упаковке                 |

Сшито и заверено печатью 19

Лист 1

Генеральный директор ООО «Имбиан лаб»

Осипова В.В.

