

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

В.Г. Акимкин

« 20 » *март* 20 24



## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для выявления и дифференциации  
генотипов вируса гепатита С (HCV) в клиническом материале  
методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с  
гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме  
«реального времени»

**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

**АмплиСенс®**



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
Российская Федерация, 111123,  
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А  
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6  
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru



## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| НАЗНАЧЕНИЕ .....                                                                                 | 3  |
| ПРИНЦИП МЕТОДА.....                                                                              | 4  |
| ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ .....                                                                         | 5  |
| АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ .....                                                               | 6  |
| МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....                                                                       | 9  |
| СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....                                                                      | 10 |
| ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ .....                                                    | 11 |
| ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..                                    | 12 |
| ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК.....                                          | 13 |
| ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ<br>ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА .....     | 13 |
| СОСТАВ .....                                                                                     | 15 |
| ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ .....                                                                | 17 |
| ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ .....                                                     | 17 |
| ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ РНК.....                                                                   | 18 |
| АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....                                       | 18 |
| А1. Подготовка проб для амплификации при использовании «ПЦР-комплекта»<br>вариант FRT-g1-4 ..... | 18 |
| А2. Подготовка проб для амплификации при использовании «ПЦР-комплекта»<br>вариант FRT-g1-6 ..... | 20 |
| Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» .....                        | 23 |
| В. Анализ и интерпретация результатов .....                                                      | 24 |
| СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ .....                                        | 28 |
| СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ .....                                                 | 30 |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

|                                                |                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ВКО                                            | – экзогенный внутренний контрольный образец                                                                                                                                                      |
| ДНК                                            | – дезоксирибонуклеиновая кислота                                                                                                                                                                 |
| кДНК                                           | – комплиментарная ДНК                                                                                                                                                                            |
| К+                                             | – положительный контроль ПЦР                                                                                                                                                                     |
| К–                                             | – отрицательный контроль ПЦР                                                                                                                                                                     |
| ОК                                             | – отрицательный контроль экстракции                                                                                                                                                              |
| ОКО                                            | – отрицательный контрольный образец                                                                                                                                                              |
| ОТ                                             | – обратная транскрипция                                                                                                                                                                          |
| ПКО                                            | – положительный контрольный образец                                                                                                                                                              |
| ПЦР                                            | – полимеразная цепная реакция                                                                                                                                                                    |
| п.н.                                           | – пара нуклеотидов                                                                                                                                                                               |
| РНК                                            | – рибонуклеиновая кислота                                                                                                                                                                        |
| ФБУН ЦНИИ<br>Эпидемиологии<br>Роспотребнадзора | – Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии»<br>Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека |
| HCV                                            | – вирус гепатита С                                                                                                                                                                               |
| FRT                                            | – флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»                                                                                                                                           |

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «АмплиСенс® HCV-генотип-FL» предназначен для выявления и дифференциации генотипов вируса гепатита С (HCV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации.

Набор реагентов рекомендуется использовать после обнаружения РНК HCV в исследуемых образцах. Материалом для проведения ПЦР служат пробы кДНК, полученные в результате реакции обратной транскрипции РНК, экстрагированной из исследуемого материала.

### Показания и противопоказания к применению набора реагентов

**ВНИМАНИЕ!** Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования клинического материала, полученного от лиц, инфицированных вирусом гепатита С (HCV), вне зависимости от формы и наличия манифестации

заболевания.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда взятие материала не может быть осуществлено по медицинским показаниям.

### **Потенциальные пользователи медицинского изделия**

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке.

## **ПРИНЦИП МЕТОДА**

Принцип тестирования основывается на экстракции РНК из образцов исследуемого материала (плазмы крови) совместно с экзогенным внутренним контрольным образцом (ВКО STI-248-гес), проведении реакции обратной транскрипции РНК и амплификации участков кДНК выявляемого вируса и кДНК ВКО STI-248-гес с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР-исследования.

Амплификация участка кДНК проводится при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Таq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, комплементарные участкам амплифицируемых кДНК-мишеней, что позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и дезоксиуридинтрифосфата.

Определение генотипа *HCV* для одного образца проводится в нескольких пробирках, в каждой пробирке дифференцируются два генотипа *HCV* или один генотип *HCV* и ВКО. Результаты амплификации регистрируются по следующим каналам флуоресцентной детекции (см. табл. 1):



Таблица 1

| Канал для флуорофора            | FAM                                                          | JOE               |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------|
| Наименование<br>ПЦР-смеси-1-FRT | Выявляемый генотип <i>HCV</i> (область амплификации)         |                   |
| 1b/3a                           | 1b (Core HCV)                                                | 3a (Core HCV)     |
| 1a/2                            | 1a (Core HCV)                                                | 2 (5UTR+Core HCV) |
| ВКО/4                           | ВКО (искусственная<br>синтезированная<br>последовательность) | 4 (Core HCV)      |
| 5a/6 <sup>1</sup>               | 5a (NS5b HCV)                                                | 6 (Core HCV)      |

## ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

**Форма 3:** «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-4

**Форма 6:** «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6

*Примечание – Формы 1, 2, 4, 5 удалены.*

Форма 3 предназначена для определения генотипов 1a, 1b, 2, 3a, 4 вируса гепатита С.

Форма 6 предназначена для определения генотипов 1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a, 6 вируса гепатита С.

Формы 3 и 6 предназначены для проведения амплификации кДНК *HCV* с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и позволяют выявлять РНК в качественном формате. Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции РНК и проведения реакции обратной транскрипции.

Форма 3 рассчитана на проведение 55 тестов (165 реакций амплификации), включая контроли. Форма 6 рассчитана на проведение 55 тестов (220 реакций амплификации), включая контроли.

<sup>1</sup> Входит в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

### Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2

| Вид исследуемого материала | Объём образца для экстракции, мкл | Комплект для экстракции РНК | Комплект для амплификации                                        | Аналитическая чувствительность (предел обнаружения), МЕ/мл |
|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Плазма крови               | 100                               | «РИБО-сорб»                 | «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-4, «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6 | $2,5 \times 10^3$                                          |
|                            |                                   | «РИБО-преп»                 | «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-4, «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6 | $5 \times 10^3$                                            |

Данный предел обнаружения достигается при соблюдении правил, указанных в разделе «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала».

### Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает РНК *HCV* заявленных генотипов.

Оценка аналитической специфичности набора реагентов показала отсутствие перекрестных реакций между генотипами 1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a и 6 вируса гепатита С при использовании рекомбинантных образцов (не менее  $1 \times 10^8$  МЕ/мл) и образцов РНК (не менее  $1 \times 10^5$  МЕ/мл), экстрагированных из плазмы крови, соответствующих генотипов *HCV*.

Информация об интерферирующих веществах указана в разделе «Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала».

### Повторяемость и воспроизводимость исследования

Повторяемость и воспроизводимость исследования были определены путем тестирования положительных и отрицательных образцов. Положительные образцы представляли собой клинические образцы плазмы крови с концентрацией РНК *HCV* не менее  $1 \times 10^5$  МЕ/мл.

Условия повторяемости включали в себя тестирование в



одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Условия воспроизводимости – тестирование в двух независимых лабораториях, разными операторами, в разные дни, на различных приборах и разных серий набора реагентов. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

| Комплект для амплификации       | Комплект для экстракции | Тип образца      | Повторяемость       |                           | Воспроизводимость   |                           |
|---------------------------------|-------------------------|------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|
|                                 |                         |                  | Количество образцов | Совпадение результатов, % | Количество образцов | Совпадение результатов, % |
| «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6 | «РИБО-сорб»             | Положительный 1a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 1b | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 2  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 3a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 4  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 5a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 6  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Отрицательный    | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 | «РИБО-преп»             | Положительный 1a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 1b | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 2  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 3a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 4  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 5a | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
|                                 |                         | Положительный 6  | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для определения диагностических характеристик набора реагентов были использованы следующие образцы:

Таблица 4

| Вид исследуемого материала                                                                                 | Количество образцов |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Образцы плазмы крови, содержащие HCV 1a генотипа                                                           | 25                  |
| Образцы плазмы крови, содержащие HCV 1b генотипа                                                           | 25                  |
| Образцы плазмы крови, содержащие HCV 2 генотипа                                                            | 25                  |
| Образцы плазмы крови, содержащие HCV 3 генотипа                                                            | 25                  |
| Модельные образцы плазмы крови с добавлением стандартного образца предприятия, содержащего HCV 4 генотипа  | 25                  |
| Модельные образцы плазмы крови с добавлением стандартного образца предприятия, содержащего HCV 5a генотипа | 25                  |
| Модельные образцы плазмы крови с добавлением стандартного образца предприятия, содержащего HCV 6 генотипа  | 25                  |

| Вид исследуемого материала                                                                                                          | Количество образцов |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Образцы плазмы крови от доноров с отсутствием маркеров вирусных гепатитов (HBsAg, anti-HCV) и маркеров синдрома цитолиза (АЛТ, АСТ) | 25                  |

Генотипическая принадлежность исследуемых образцов плазмы с HCV была определена с помощью секвенирования геномных регионов Core (720 п.н.) и NS5B (1060 п.н.) вируса HCV. Полученные нуклеотидные последовательности подвергались филогенетическому анализу с использованием метода ближайших соседей и максимального правдоподобия с помощью программы MEGA 6.0.

Таблица 5

### Результаты тестирования набора реагентов «АмплиСенс® HCV-генотип-FL» в сравнении с референтным методом

| Вид исследуемого материала | Определяемый аналит | Результаты применения «АмплиСенс® HCV-генотип-FL» |               | Результаты применения референтного метода |               |
|----------------------------|---------------------|---------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------|---------------|
|                            |                     |                                                   |               | положительных                             | отрицательных |
| Плазма крови               | генотип HCV 1a      | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 1b      | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 2       | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 3a      | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 4       | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 5a      | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |
|                            | генотип HCV 6       | Всего использовано 200 образцов                   | положительных | 25                                        | 0             |
|                            |                     |                                                   | отрицательных | 0                                         | 175           |



**Диагностические характеристики набора реагентов  
«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

| Вид исследуемого материала | Определяемый анализ | Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %) | Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %) |
|----------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Плазма крови               | генотип HCV 1a      | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 1b      | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 2       | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 3a      | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 4       | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 5a      | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |
|                            | генотип HCV 6       | 100 (86,28 – 100) %                                                  | 100 (97,91 – 100) %                                               |

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением 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, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.

- Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

## **СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ**

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять 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».

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

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

### **Взятие исследуемого материала**

1. Вакуумная система забора крови типа Vacuette, включающая пробирки с ЭДТА.
2. Центрифуга с охлаждением до 24 тыс g.
3. Центрифуга медицинская с принадлежностями.
4. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 2,0 мл.

### **Экстракция РНК из исследуемых образцов**

5. Комплекты реагентов для экстракции РНК – «РИБО-сорб» (РУ № ФСР 2008/03993), «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147).
6. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции РНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции РНК.

### **Обратная транскрипция РНК**

7. Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК – «РЕВЕРТА-L» (РУ № ФСР 2008/03994).
8. Дополнительные материалы и оборудование для обратной транскрипции РНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для получения кДНК на матрице РНК.

### **Амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации**

9. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
  - а) завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл для приготовления реакционной смеси;
  - б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с круглой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – при использовании прибора планшетного типа;
  - в) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой – при использовании прибора



роторного типа.

10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл.
11. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл.
12. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс).
13. Вортекс.
14. Автоматические дозаторы переменного объема.
15. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595)), «ДТ-96» / «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2007/01250, РУ № ФСР 2011/10229)), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США (РУ № ФСЗ 2008/03399)).
16. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
17. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
18. Емкость для сброса наконечников.

## **ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА**

Материалом для исследования служит плазма крови.

Взятие крови проводится утром натощак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой диаметром 0,8–1,1 мм в пробирку с 6 % раствором ЭДТА (K<sub>2</sub>ЭДТА или K<sub>3</sub>ЭДТА) или с цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и экстракция ДНК станет невозможной) и хранят при температуре от 2 до 8 °С не более 6 ч. Пробирку с цельной кровью центрифугируют 20 мин при 800–1600 g при комнатной температуре. Полученную плазму переносят в количестве не менее 1 мл отдельными наконечниками с фильтром в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 2,0 мл.

Допускается хранение образцов плазмы крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – не более 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

Допускается транспортирование плазмы крови при температуре от 2 до 8 °С не более 1 суток.

## **ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК**

Образцы плазмы крови не требуют предварительной подготовки.

## **ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА**

Для контроля эффективности экстракции РНК и реакции амплификации в наборе реагентов предусмотрено использование внутреннего контрольного образца (ВКО), который добавляется в каждый биологический образец на этапе экстракции нуклеиновых кислот. По окончании реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов кДНК ВКО, говорит о достаточной эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибиторов ПЦР.

### **Ограничения по использованию проб**

Непригодными для исследования являются:

- образцы плазмы крови с гемолизом;
- образцы плазмы крови, подвергшиеся многократному замораживанию-оттаиванию;
- образцы плазмы крови, полученные из образцов крови, взятой в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта.

### **Потенциально интерферирующие вещества**

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале (плазма крови), используемом для исследования (см. табл. 7).

Были протестированы:

- образец биологического материала, содержащий смесь *HCV* различных генотипов с концентрацией РНК *HCV* каждого из них  $1 \times 10^4$  МЕ/мл;
- образцы плазмы крови с добавлением эндогенных потенциально интерферирующих веществ. Концентрация каждого потенциально интерферирующего вещества указана в табл. 7;
- образцы плазмы крови, полученные из цельной крови, забранной в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта;
- образцы плазмы крови, полученные из цельной крови, забранной в пробирки с  $K_2$ ЭДТА и  $K_3$ ЭДТА в качестве антикоагулянтов;
- образцы плазмы крови, полученные от пациента с вирусом гепатита С с подавленной вирусной нагрузкой, находящегося на специфической терапии, включающей в себя пэгинтерферон (PegIFN) и рибавирин (RBV) (подтверждение неопределяемой вирусной нагрузки *HCV* в образце проводили с помощью набора реагентов «АмплиСенс® *HCV* / *HBV* / *HIV*-FL» (ПУ № ФСР 2009/06187). Плазма от пациента исследовалась как отдельно, так и в смеси с контрольным образцом *HCV*, в котором концентрация РНК *HCV* каждого генотипа идентична контрольному образцу *HCV* ( $10^4$  МЕ/мл).

Таблица 7

| Вид исследуемого материала | Вид потенциального интерферента | Потенциальный интерферент (протестированная концентрация в образце) | Наличие интерференции |
|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Плазма крови               | Эндогенные вещества             | Гемоглобин (5 г/л)                                                  | Не обнаружено         |
|                            |                                 | Триглицериды (37 ммоль/л)                                           | Не обнаружено         |
|                            |                                 | Билирубин (210 мкмоль/л)                                            | Не обнаружено         |
|                            |                                 | Белок (120 г/л)                                                     | Не обнаружено         |
|                            | Экзогенные вещества             | $K_2$ ЭДТА (2 мг/мл) <sup>2</sup>                                   | Не обнаружено         |
|                            |                                 | $K_3$ ЭДТА (2 мг/мл) <sup>2</sup>                                   | Не обнаружено         |
|                            |                                 | Лития гепарин (12 МЕ/мл) <sup>2</sup>                               | <u>Обнаружено</u>     |
|                            |                                 | Пэгинтерферон (1,5 мкг/кг/нед) + рибавирин (15 мкг/кг/сут)          | Не обнаружено         |

<sup>2</sup> В соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 (Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа) калия ЭДТА используют в концентрациях от 1,2 до 2,0 мг/мл, лития гепарин – в концентрациях от 12 до 30 МЕ/мл.



## СОСТАВ

**«ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-4** – комплект реагентов для амплификации участков кДНК генотипов (1a, 1b, 2, 3a, 4) *HCV* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – включает:

| Реагент                                   | Описание                                                    | Объем, мл | Количество |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------|------------|
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> генотипы 1b/3a | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> генотипы 1a/2  | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> ВКО/генотип 4  | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-буфер-С                               | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,3       | 3 пробирки |
| Полимераза (TaqF)                         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,03      | 3 пробирки |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> генотипы 1b/3a        | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> генотипы 1a/2         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> ВКО/генотип 4         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| К–                                        | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,5       | 1 пробирка |
| ОКО                                       | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 1,2       | 1 пробирка |
| ВКО STI-248-rec                           | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,5       | 1 пробирка |

Комплект реагентов входит в состав формы 3.

## СОСТАВ

**«ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6** – комплект реагентов для амплификации участков кДНК генотипов (1а, 1b, 2, 3а, 4, 5а, 6) *HCV* с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – включает:

| Реагент                                   | Описание                                                    | Объем, мл | Количество |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------|------------|
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> генотипы 1b/3a | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> генотипы 1a/2  | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> ВКО/генотип 4  | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-смесь-1-FRT <i>HCV</i> генотипы 5a/6  | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-буфер-С                               | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,3       | 4 пробирки |
| Полимераза (TaqF)                         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,03      | 4 пробирки |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> генотипы 1b/3a        | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> генотипы 1a/2         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> ВКО/генотип 4         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ПКО кДНК <i>HCV</i> генотипы 5a/6         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| К–                                        | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,5       | 1 пробирка |
| ОКО                                       | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 1,2       | 1 пробирка |
| ВКО STI-248-rec                           | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,5       | 1 пробирка |

Комплект реагентов входит в состав формы 6.

**Эксплуатационная документация** в составе: инструкция по применению, паспорт качества набора реагентов, вкладыш к набору реагентов, краткое руководство к набору реагентов – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя ([www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru)).

### ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция РНК из исследуемых образцов,
- обратная транскрипция РНК,
- амплификация кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

### ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

**ВНИМАНИЕ!** При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

Для экстракции РНК используются комплекты реагентов «РИБО-сорб», «РИБО-преп». Порядок работы с комплектами реагентов «РИБО-сорб», «РИБО-преп» смотрите в инструкции к соответствующему комплекту для экстракции.

Объемы реагентов и образцов при экстракции с помощью комплектов реагентов «РИБО-сорб» и «РИБО-преп»:

Экстракция РНК из каждого исследуемого образца и контролей проводится в присутствии внутреннего контрольного образца – ВКО STI-248-rec.

Объем ВКО STI-248-rec – 10 мкл в каждую пробирку  
**ВНИМАНИЕ!** Объем ВКО отличается от указанного в инструкции к комплекту реагентов «РИБО-сорб».

Объем исследуемого образца – 100 мкл.

В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести 100 мкл ОКО.

Объем элюции – 50 мкл.

**ВНИМАНИЕ!** Реакцию ОТ рекомендуется проводить сразу после получения проб РНК.

РНК-пробы могут храниться до 4 ч при температуре от 2 до 8 °С. Допускается хранение препарата при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 1 мес, при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.



### **ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ РНК**

**ВНИМАНИЕ!** При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

Для получения кДНК на матрице РНК используется комплект реагентов «РЕВЕРТА-L». Порядок работы с комплектом реагентов «РЕВЕРТА-L» смотрите в инструкции к комплекту реагентов для получения кДНК на матрице РНК.

### **АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»**

Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Для внесения в пробирки реагентов, проб кДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

**A1. Подготовка проб для амплификации при использовании «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-4**

**Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы кДНК – 10 мкл.**

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления трех реакционных смесей. На одну реакцию требуется 10 мкл ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* генотипы 1b/3a или ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* генотипы 1a/2, или ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* ВКО/генотип 4, 5 мкл ПЦР-буфера-С и 0,5 мкл полимеразы (TaqF). Смеси готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п.7) плюс запас на одну реакцию.

**ВНИМАНИЕ!** Компоненты реакционных смесей следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

2. Разморозить пробирки с ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* генотипы 1b/3a, ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* генотипы 1a/2 и ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* ВКО/генотип 4. Перемешать содержимое всех реагентов ПЦР-комплекта, осадить капли на вортексе.
3. В трех отдельных пробирках подготовить три реакционные смеси:

- в первой пробирке, промаркированной «1b/3a», смешать необходимое количество ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С;
- во второй пробирке, промаркированной «1a/2», смешать необходимое количество ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1a/2, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С;
- в третьей пробирке, промаркированной «ВКО/4» смешать необходимое количество ПЦР-смеси-1-FRT HCV ВКО/генотип 4, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С.

**ВНИМАНИЕ!** Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

4. Отобрать необходимое (трехкратное) количество пробирок или стрипов для амплификации кДНК исследуемых и контрольных проб (см. табл. 8). Промаркировать пробирки «1b/3a», «1a/2» и «ВКО/4».
5. Внести в каждую пробирку первого ряда по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «1b/3a», в каждую пробирку второго ряда - по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «1a/2», в каждую пробирку третьего ряда - по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «ВКО/4». Неиспользованные остатки реакционных смесей выбросить.
6. В каждые три пробирки с различными реакционными смесями внести по 10 мкл кДНК-проб, полученных в результате экстракции и обратной транскрипции из исследуемых образцов.
7. Поставить контрольные реакции:
  - а) положительный контроль ПЦР (K+<sub>1b/3a</sub>) – в пробирку с реакционной смесью «1b/3a» внести 10 мкл ПКО кДНК HCV генотипы 1b/3a;
  - б) положительный контроль ПЦР (K+<sub>1a/2</sub>) – в пробирку с реакционной смесью «1a/2» внести 10 мкл ПКО кДНК HCV генотипы 1a/2;
  - в) положительный контроль ПЦР (K+<sub>вко/4</sub>) – в пробирку с реакционной смесью «ВКО/4» внести 10 мкл ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4.
  - г) отрицательный контроль ПЦР (K–) – в три пробирки с различными реакционными смесями «1b/3a», «1a/2» и

«ВКО/4» внести по 10 мкл К–.

- д) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в три пробирки с различными реакционными смесями «1b/3a», «1a/2» и «ВКО/4» внести по 10 мкл пробы, экстрагированной из **ОКО** и прошедшей обратную транскрипцию.

**ВНИМАНИЕ!** Содержимое пробирок с добавленными контрольными образцами необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

Таблица 8

**Схема приготовления одной реакционной смеси**

|                                      |                            | Объем реагентов на указанное количество реакций |             |                   |
|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------|-------------|-------------------|
| Объем реагента на одну реакцию (мкл) |                            | 10,00                                           | 5,00        | 0,50              |
| Число исследуемых образцов           | Число реакций <sup>3</sup> | ПЦР-смесь-1-FRT*                                | ПЦР-буфер-С | Полимераза (TaqF) |
| 4                                    | 8                          | 80                                              | 40          | 4,0               |
| 5                                    | 9                          | 90                                              | 45          | 4,5               |
| 6                                    | 10                         | 100                                             | 50          | 5,0               |
| 7                                    | 11                         | 110                                             | 55          | 5,5               |
| 8                                    | 12                         | 120                                             | 60          | 6,0               |
| 9                                    | 13                         | 130                                             | 65          | 6,5               |
| 10                                   | 14                         | 140                                             | 70          | 7,0               |
| 11                                   | 15                         | 150                                             | 75          | 7,5               |
| 12                                   | 16                         | 160                                             | 80          | 8,0               |

\* Наименование ПЦР-смеси-1-FRT

**A2. Подготовка проб для амплификации при использовании «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6**

**Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы кДНК – 10 мкл.**

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления четырех реакционных смесей. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси-1-FRT HCV** генотипы 1b/3a или **ПЦР-смеси-1-FRT HCV** генотипы 1a/2, или **ПЦР-смеси-1-FRT HCV** ВКО/генотип 4, или **ПЦР-смеси-1-FRT HCV** генотипы 5a/6, **5 мкл ПЦР-буфера-С** и **0,5 мкл полимеразы (TaqF)**. Смеси готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п.7) плюс запас на одну реакцию.

<sup>3</sup> Число исследуемых образцов + 1 контроль этапа экстракции РНК + 2 контроля ПЦР + запас на один образец (N+4, N – количество исследуемых образцов).



**ВНИМАНИЕ!** Компоненты реакционных смесей следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

2. Разморозить пробирки с ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* генотипы 1b/3a, ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* генотипы 1a/2, ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* ВКО/генотип 4 и ПЦР-смесью-1-FRT *HCV* генотипы 5a/6. Перемешать содержимое всех реагентов ПЦР-комплекта, осадить капли на вортексе.

3. В четырех отдельных пробирках подготовить четыре реакционные смеси:

- в первой пробирке, промаркированной «1b/3a», смешать необходимое количество ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* генотипы 1b/3a, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С;
- во второй пробирке, промаркированной «1a/2», смешать необходимо количество ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* генотипы 1a/2, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С;
- в третьей пробирке, промаркированной «ВКО/4» смешать необходимо количество ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* ВКО/генотип 4, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С;
- в четвертой пробирке, промаркированной «5a/6» смешать необходимо количество ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* генотипы 5a/6, полимеразы (TaqF), ПЦР-буфера-С.

**ВНИМАНИЕ!** Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

4. Отобрать необходимое (четырекратное) количество пробирок или стрипов для амплификации кДНК исследуемых и контрольных проб (см. табл. 9). Промаркировать пробирки «1b/3a», «1a/2», «ВКО/4» и «5a/6».

5. Внести в каждую пробирку первого ряда по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «1b/3a», в каждую пробирку второго ряда по - 15 мкл приготовленной реакционной смеси «1a/2», в каждую пробирку третьего ряда - по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «ВКО/4», в каждую пробирку четвертого ряда - по 15 мкл приготовленной реакционной смеси «5a/6». Неиспользованные остатки реакционных смесей выбросить.

**Схема приготовления одной реакционной смеси**

|                                      |                            | Объем реагентов на указанное количество реакций |             |                   |
|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------|-------------|-------------------|
| Объем реагента на одну реакцию (мкл) |                            | 10,00                                           | 5,00        | 0,50              |
| Число исследуемых образцов           | Число реакций <sup>4</sup> | ПЦР-смесь-1-FRT*                                | ПЦР-буфер-С | Полимераза (TaqF) |
| 4                                    | 8                          | 80                                              | 40          | 4,0               |
| 5                                    | 9                          | 90                                              | 45          | 4,5               |
| 6                                    | 10                         | 100                                             | 50          | 5,0               |
| 7                                    | 11                         | 110                                             | 55          | 5,5               |
| 8                                    | 12                         | 120                                             | 60          | 6,0               |
| 9                                    | 13                         | 130                                             | 65          | 6,5               |
| 10                                   | 14                         | 140                                             | 70          | 7,0               |
| 11                                   | 15                         | 150                                             | 75          | 7,5               |
| 12                                   | 16                         | 160                                             | 80          | 8,0               |

\* Наименование ПЦР-смеси-1-FRT

6. В каждые четыре пробирки с различными реакционными смесями внести по **10 мкл кДНК-проб**, полученных в результате экстракции и обратной транскрипции из исследуемых образцов.
7. Поставить контрольные реакции:
  - а) **положительный контроль ПЦР (K+<sub>1b/3a</sub>)** – в пробирку с реакционной смесью «1b/3a» внести **10 мкл ПКО кДНК HCV** генотипы 1b/3a;
  - б) **положительный контроль ПЦР (K+<sub>1a/2</sub>)** – в пробирку с реакционной смесью «1a/2» внести **10 мкл ПКО кДНК HCV** генотипы 1a/2;
  - в) **положительный контроль ПЦР (K+<sub>ВКО/4</sub>)** – в пробирку с реакционной смесью «ВКО/4» внести **10 мкл ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4**;
  - г) **положительный контроль ПЦР (K+<sub>5a/6</sub>)** – в пробирку с реакционной смесью «5a/6» внести **10 мкл ПКО кДНК HCV** генотипы 5a/6.
  - д) **отрицательный контроль ПЦР (K–)** – в четыре пробирки с различными реакционными смесями «1b/3a», «1a/2», «ВКО/4» и «5a/6» внести по **10 мкл K–**.
  - е) **отрицательный контроль экстракции (OK)** – в четыре пробирки с различными реакционными смесями «1b/3a»,

<sup>4</sup> Число исследуемых образцов + 1 контроль этапа экстракции РНК + 2 контроля ПЦР + запас на один образец (N+4, N – количество исследуемых образцов).

«1а/2», «ВКО/4» и «5а/6» внести по 10 мкл пробы, экстрагированной из ОКО и прошедшей обратную транскрипцию.

**ВНИМАНИЕ!** Содержимое пробирок с добавленными контрольными образцами необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

## Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

1. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 10, 11).

Таблица 10

### Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс-1» для приборов роторного типа<sup>5</sup>

| Цикл                         | Температура, °C | Время  | Измерение флуоресценции  | Количество циклов |
|------------------------------|-----------------|--------|--------------------------|-------------------|
| Hold/Удерж. Темп-ры          | 95              | 15 мин | —                        | 1                 |
| Cycling 1/<br>Циклирование 1 | 95              | 5 с    | —                        | 5                 |
|                              | 60              | 20 с   | —                        |                   |
|                              | 72              | 15 с   | —                        |                   |
| Cycling 2/<br>Циклирование 2 | 95              | 5 с    | —                        | 40                |
|                              | 60              | 20 с   | FAM/Green,<br>JOE/Yellow |                   |
|                              | 72              | 15 с   | —                        |                   |

Таблица 11

### Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс-1» для приборов планшетного типа<sup>6</sup>

| Цикл | Температура, °C | Время  | Измерение флуоресценции | Количество циклов |
|------|-----------------|--------|-------------------------|-------------------|
| 1    | 95              | 15 мин | —                       | 1                 |
| 2    | 95              | 5 с    | —                       | 5                 |
|      | 60              | 20 с   | —                       |                   |
|      | 72              | 15 с   | —                       |                   |
| 3    | 95              | 5 с    | —                       | 40                |
|      | 60              | 30 с   | FAM, HEX                |                   |
|      | 72              | 15 с   | —                       |                   |

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется перед постановкой в

<sup>5</sup> Например, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research), Rotor-Gene Q (Qiagen).

<sup>6</sup> Например, «ДТ-96» / «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), CFX96 (Bio-Rad).



амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.

3. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

## **В. Анализ и интерпретация результатов**

**ВНИМАНИЕ!** Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации в соответствии с таблицей 12:

Таблица 12

| Наименование<br>ПЦР-анализа FRT | Канал для флуорофора |                     |
|---------------------------------|----------------------|---------------------|
|                                 | FAM                  | JOE                 |
| HCV генотипы 1b/3a              | кДНК HCV генотип 1b  | кДНК HCV генотип 3a |
| HCV генотипы 1a/2               | кДНК HCV генотип 1a  | кДНК HCV генотип 2  |
| HCV ВКО/генотип 4               | кДНК ВКО             | кДНК HCV генотип 4  |
| HCV генотипы 5a/6 <sup>7</sup>  | кДНК HCV генотип 5a  | кДНК HCV генотип 6  |

Анализ и интерпретацию полученных результатов проводят с помощью ПО прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени».

Для анализа и интерпретации результатов используют значения порогового цикла (Ct), полученные в результате пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией.

Принцип интерпретации результатов следующий:

1. Генотип HCV устанавливается путём сопоставления результатов амплификации в трёх (для «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-4) или четырех пробирках (для «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6) в соответствии с табл. 12, причем:

<sup>7</sup> Входит в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6.

- а) Если для пробы определено значение  $C_t$ , соответствующее одному генотипу РНК *HCV*, то выдается наименование выявленного генотипа;
- б) Если для пробы определены два и более значений  $C_t$ , то выдается двойной, тройной и т.д. генотип.

Примечание - Если для пробы определены значения  $C_t$  на реакционной смеси «ВКО/4» по каналу для флуорофора JOE (4 генотип *HCV*) и на реакционной смеси «1b/3a» по каналу для флуорофора FAM (1b генотип *HCV*), причем значение  $C_t$  по 4-му генотипу меньше значения  $C_t$  по первому генотипу на 10 и более циклов, то выдается результат «Генотип 4».

- 2. Если для пробы определено значение  $C_t$  только для ВКО (реакционная смесь «ВКО/4», канал для флуорофора FAM) и оно ниже граничного значения, то выдается результат «Генотип *HCV* не определен». При этом если известно, что концентрация РНК *HCV* в этой пробе находится в пределах аналитической чувствительности (предела обнаружения) набора реагентов, выдается результат «Генотип *HCV* не определен по причине низкой вирусной нагрузки».
- 3. Если для пробы отсутствуют значения  $C_t$  по всем генотипам, а значение  $C_t$  для ВКО (по каналу для флуорофора FAM на ПЦР-смеси-1-FRT *HCV* ВКО/генотип 4) не определено или превышает граничное, то результат анализа считается невалидным и требуется повторить ПЦР-исследование данной пробы, начиная с этапа экстракции РНК.

**ВНИМАНИЕ!** Граничные значения  $C_t$  указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей ПЦР в соответствии с табл. 13 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

| Реакцион-ная смесь  | «1b/3a»                                       |                                  | «1a/2»                           |                                  | «ВКО/4»                          |                                  | «5a/6» <sup>8</sup>              |                                  |
|---------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Контроль            | Значения порогового цикла (Ct) для флуорофора |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
|                     | FAM                                           | JOE                              | FAM                              | JOE                              | FAM                              | JOE                              | FAM                              | JOE                              |
| ОК                  | Отсутствует                                   |                                  | Отсутствует                      |                                  | Меньше<br>граничного<br>значения | Отсутствует                      | Отсутствует                      |                                  |
| К–                  | Отсутствует                                   |                                  | Отсутствует                      |                                  | Отсутствует                      |                                  | Отсутствует                      |                                  |
| K+ <sub>1b/3a</sub> | Меньше<br>граничного<br>значения              | Меньше<br>граничного<br>значения | *                                | *                                | *                                | *                                | *                                | *                                |
| K+ <sub>1a/2</sub>  | *                                             | *                                | Меньше<br>граничного<br>значения | Меньше<br>граничного<br>значения | *                                | *                                | *                                | *                                |
| K+ <sub>ВКО/4</sub> | *                                             | *                                | *                                | *                                | Меньше<br>граничного<br>значения | Меньше<br>граничного<br>значения | *                                | *                                |
| K+ <sub>5a/6</sub>  | *                                             | *                                | *                                | *                                | *                                | *                                | Меньше<br>граничного<br>значения | Меньше<br>граничного<br>значения |

\* На данной реакционной смеси не тестируется.

Возможные ошибки:

1. Для положительных контролей ПЦР (K+<sub>1b/3a</sub>, K+<sub>1a/2</sub>, K+<sub>ВКО/4</sub> или K+<sub>5a/6</sub>) значение порогового цикла (Ct) хотя бы в одной пробе по любому из указанных каналов для флуорофоров (см. таблицу 12) отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
2. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE хотя бы на одной из реакционных смесей «1b/3a», «1a/2», «5a/6» и/или на реакционной смеси «ВКО/4» по каналу для флуорофора JOE определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, для которых на этой реакционной смеси был определен генотип

<sup>8</sup> Входит в состав ПЦР-комплекта вариант FRT-g1-6.



*HCV*, начиная с этапа экстракции РНК.

3. Для отрицательного контроля ПЦР (К-) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE на любой реакционной смеси определено значение порогового цикла ( $C_t$ ). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, для которых на этой реакционной смеси был определен генотип *HCV*.

## **СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ**

**Срок годности.** 12 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

**Транспортирование.** Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих холодоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

### **Хранение.**

**Форма 3.** «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-4 хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. Допускается хранение ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1a/2, ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4, ПКО кДНК HCV генотипы 1b/3a, ПКО кДНК HCV генотипы 1a/2 и ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4 при температуре ниже минус 24 °С. ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1a/2 и ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4 хранить в защищенном от света месте.

**Форма 6.** «ПЦР-комплект» вариант FRT-g1-6 хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. Допускается хранение ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 1a/2, ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4, ПЦР-смеси-1-FRT HCV генотипы 5a/6, ПКО кДНК HCV генотипы 1b/3a, ПКО кДНК HCV генотипы 1a/2, ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4 и ПКО кДНК HCV генотипы 5a/6 при температуре ниже минус 24 °С. ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1a/2, ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4 и ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 5a/6 хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

## **ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ**

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123 г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, e-mail: [obtk@pcg.ru](mailto:obtk@pcg.ru). Отзывы и предложения о продукции АмплиСенс® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: [www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru).

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.



# СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно



Код партии



Содержимого достаточно для проведения <n> тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Верхняя граница температурного диапазона



Дата изготовления



Изготовитель

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 30

тридцать лист ов

Руководитель службы регистрации медицинских изделий  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора  
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

« 20 » 05 2024 г.

А.О. Лисицына

М.П.



Всего пронумеровано,  
прошнуровано и скреплено  
печатью 30 листа(ов)  
Директор ГБУЗ МО МОНИКИ  
им.М.Ф.Владимирского  
Соболев К.Э.





## Краткое руководство

### набор реагентов «АмплиСенс® HCV-генотип-FL»

Форма 3:  R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC);  
 H-0253-1-3

Форма 6:  R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC)  
 H-0256-1-3



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
Российская Федерация, 111123,  
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А  
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6  
тел. (495) 974 9642,  
e-mail: [amplisens@pcr.ru](mailto:amplisens@pcr.ru)



**ВНИМАНИЕ!** Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов. Анализ и интерпретацию результатов необходимо проводить в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

### ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Комплекты для экстракции:

- «РИБО-сорб»;
- «РИБО-преп».

**Контроли:** внутренний контрольный образец (ВКО) – в каждом образце.

Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

**При экстракции с помощью «РИБО-сорб», «РИБО-преп» добавить:**

|                     |         |                                     |
|---------------------|---------|-------------------------------------|
| ВКО STI-248-гес     | 10 мкл  | в каждый образец                    |
| Исследуемые образцы | 100 мкл | в пробирки для исследуемых образцов |
| ОКО                 | 100 мкл | в пробирку для ОК                   |
| <b>Элюция</b>       |         |                                     |
| все образцы         | 50 мкл  | в каждую пробирку                   |

**ВНИМАНИЕ!** Реакцию ОТ рекомендуется проводить сразу после получения проб РНК.

РНК-пробы могут храниться до 4 ч при температуре от 2 до 8 °С. Допускается хранение препарата при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 1 мес, при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

### ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Комплекты для обратной транскрипции:

«РЕВЕРТА-L».



## ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-4

**Общий объем реакционной смеси:** 25 мкл, включая объем пробы кДНК 10 мкл.

Каждый исследуемый образец исследуется в 3-х реакционных смесях.

**Контроли:** для каждой группы амплифицируемых образцов 1 положительный (K+), 1 отрицательный (K-) контроли ПЦР, 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления трех реакционных смесей.
2. Разморозить пробирки с ПЦР-смесью-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смесью-1-FRT HCV генотипы 1a/2, ПЦР-смесью-1-FRT HCV ВКО/генотип 4.
3. В трех отдельных пробирках подготовить реакционные смеси:

| Компонент реакционной смеси                                                                                           | Объем, мкл          | Обозначения                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1b/3a или<br>ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1a/2, или<br>ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4 | $10 \cdot (N+K+1)$  | N – количество исследуемых образцов;<br>K – количество контролей;<br>1 – запас |
| ПЦР-буфер-С                                                                                                           | $5 \cdot (N+K+1)$   |                                                                                |
| Полимераза (TaqF)                                                                                                     | $0,5 \cdot (N+K+1)$ |                                                                                |

**ВНИМАНИЕ!** Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

4. Отобрать необходимое (трехкратное) количество пробирок или стрипов для амплификации исследуемых и контрольных образцов:

| Внести по 15 мкл                                                                              | HCV генотипы 1b/3a                             | HCV генотипы 1a/2                             | HCV ВКО/генотип 4                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Приготовленной реакционной смеси                                                              | в каждую пробирку                              | в каждую пробирку                             | в каждую пробирку                              |
| <b>Внести по 10 мкл</b>                                                                       |                                                |                                               |                                                |
| Проб кДНК, полученных в результате экстракции и обратной транскрипции из исследуемых образцов | в пробирки для исследуемых образцов            | в пробирки для исследуемых образцов           | в пробирки для исследуемых образцов            |
| Пробы, экстрагированной из ОКО и прошедшей обратную транскрипцию                              | в пробирку для ОК <sub>1b/3a</sub>             | в пробирку для ОК <sub>1a/2</sub>             | в пробирку для ОК <sub>ВКО/4</sub>             |
| K <sup>-</sup>                                                                                | в пробирку для K <sup>-</sup> <sub>1b/3a</sub> | в пробирку для K <sup>-</sup> <sub>1a/2</sub> | в пробирку для K <sup>-</sup> <sub>ВКО/4</sub> |
| ПКО кДНК HCV генотипы 1b/3a                                                                   | в пробирку для K <sup>+</sup> <sub>1b/3a</sub> | -                                             | -                                              |
| ПКО кДНК HCV генотипы 1a/2                                                                    | -                                              | в пробирку для K <sup>+</sup> <sub>1a/2</sub> | -                                              |
| ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4                                                                    | -                                              | -                                             | в пробирку для K <sup>+</sup> <sub>ВКО/4</sub> |

## ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ «ПЦР-комплекта» вариант FRT-q1-6

Общий объем реакционной смеси: 25 мкл, включая объем пробы кДНК 10 мкл.

Каждый исследуемый образец исследуется в 4-х реакционных смесях.

Контроли: для каждой группы амплифицируемых образцов 1 положительный (K+), 1 отрицательный (K-) контроли ПЦР, 1 отрицательный контроль экстракции (OK).

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления четырех реакционных смесей.
2. Разморозить пробирки с ПЦР-смесью-1-FRT HCV генотипы 1b/3a, ПЦР-смесью-1-FRT HCV генотипы 1a/2, ПЦР-смесью-1-FRT HCV ВКО/генотип 4, ПЦР-смесью-1-FRT HCV генотипы 5a/6.
3. В четырех отдельных пробирках приготовить реакционные смеси:

| Компонент реакционной смеси                                                                                                                                     | Объем, мкл  | Обозначения                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1b/3a или<br>ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 1a/2, или<br>ПЦР-смесь-1-FRT HCV ВКО/генотип 4, или<br>ПЦР-смесь-1-FRT HCV генотипы 5a/6 | 10*(N+K+1)  | N – количество исследуемых образцов;<br>K – количество контролей;<br>1 – запас |
| ПЦР-буфер-С                                                                                                                                                     | 5*(N+K+1)   |                                                                                |
| Полимераза (TaqF)                                                                                                                                               | 0,5*(N+K+1) |                                                                                |

**ВНИМАНИЕ!** Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

4. Отобрать необходимое (четырекратное) количество пробирок или стрипов для амплификации исследуемых и контрольных образцов:

| Внести по 15 мкл                                                                              | HCV<br>генотипы 1b/3a                          | HCV<br>генотипы 1a/2                          | HCV<br>ВКО/генотип 4                           | HCV<br>генотипы 5a/6                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Приготовленной реакционной смеси                                                              | в каждую пробирку                              | в каждую пробирку                             | в каждую пробирку                              | в каждую пробирку                             |
| <b>Внести по 10 мкл</b>                                                                       |                                                |                                               |                                                |                                               |
| Проб кДНК, полученных в результате экстракции и обратной транскрипции из исследуемых образцов | в пробирки для исследуемых образцов            | в пробирки для исследуемых образцов           | в пробирки для исследуемых образцов            | в пробирки для исследуемых образцов           |
| Пробы, экстрагированной из ОКО и прошедшей обратную транскрипцию                              | в пробирку для ОК <sub>1b/3a</sub>             | в пробирку для ОК <sub>1a/2</sub>             | в пробирку для ОК <sub>ВКО/4</sub>             | в пробирку для ОК <sub>5a/6</sub>             |
| K-                                                                                            | в пробирку для K <sub>-1b/3a</sub>             | в пробирку для K <sub>-1a/2</sub>             | в пробирку для K <sub>-ВКО/4</sub>             | в пробирку для K <sub>-5a/6</sub>             |
| ПКО кДНК HCV генотипы 1b/3a                                                                   | в пробирку для K <sub>+</sub> <sub>1b/3a</sub> | -                                             | -                                              | -                                             |
| ПКО кДНК HCV генотипы 1a/2                                                                    | -                                              | в пробирку для K <sub>+</sub> <sub>1a/2</sub> | -                                              | -                                             |
| ПКО кДНК HCV ВКО/генотип 4                                                                    | -                                              | -                                             | в пробирку для K <sub>+</sub> <sub>ВКО/4</sub> | -                                             |
| ПКО кДНК HCV генотипы 5a/6                                                                    | -                                              | -                                             | -                                              | в пробирку для K <sub>+</sub> <sub>5a/6</sub> |



## АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени».

| Цикл | Программа амплификации «АмплиСенс-1» |        |                         |               |                               |        |                         |               |
|------|--------------------------------------|--------|-------------------------|---------------|-------------------------------|--------|-------------------------|---------------|
|      | для приборов роторного типа          |        |                         |               | для приборов планшетного типа |        |                         |               |
|      | Температура, °C                      | Время  | Измерение флуоресценции | Кол-во циклов | Температура, °C               | Время  | Измерение флуоресценции | Кол-во циклов |
| 1    | 95                                   | 15 мин | —                       | 1             | 95                            | 15 мин | —                       | 1             |
| 2    | 95                                   | 5 с    | —                       | 5             | 95                            | 5 с    | —                       | 5             |
|      | 60                                   | 20 с   | —                       |               | 60                            | 20 с   | —                       |               |
|      | 72                                   | 15 с   | —                       |               | 72                            | 15 с   | —                       |               |
| 3    | 95                                   | 5 с    | —                       | 40            | 95                            | 5 с    | —                       | 40            |
|      | 60                                   | 20 с   | FAM/ Green, JOE/ Yellow |               | 60                            | 30 с   | FAM, HEX                |               |
|      | 72                                   | 15 с   | —                       |               | 72                            | 15 с   | —                       |               |

Настройки приборов роторного и планшетного типа см. во вкладыше к набору реагентов.

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля и запустить прибор. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.

## АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

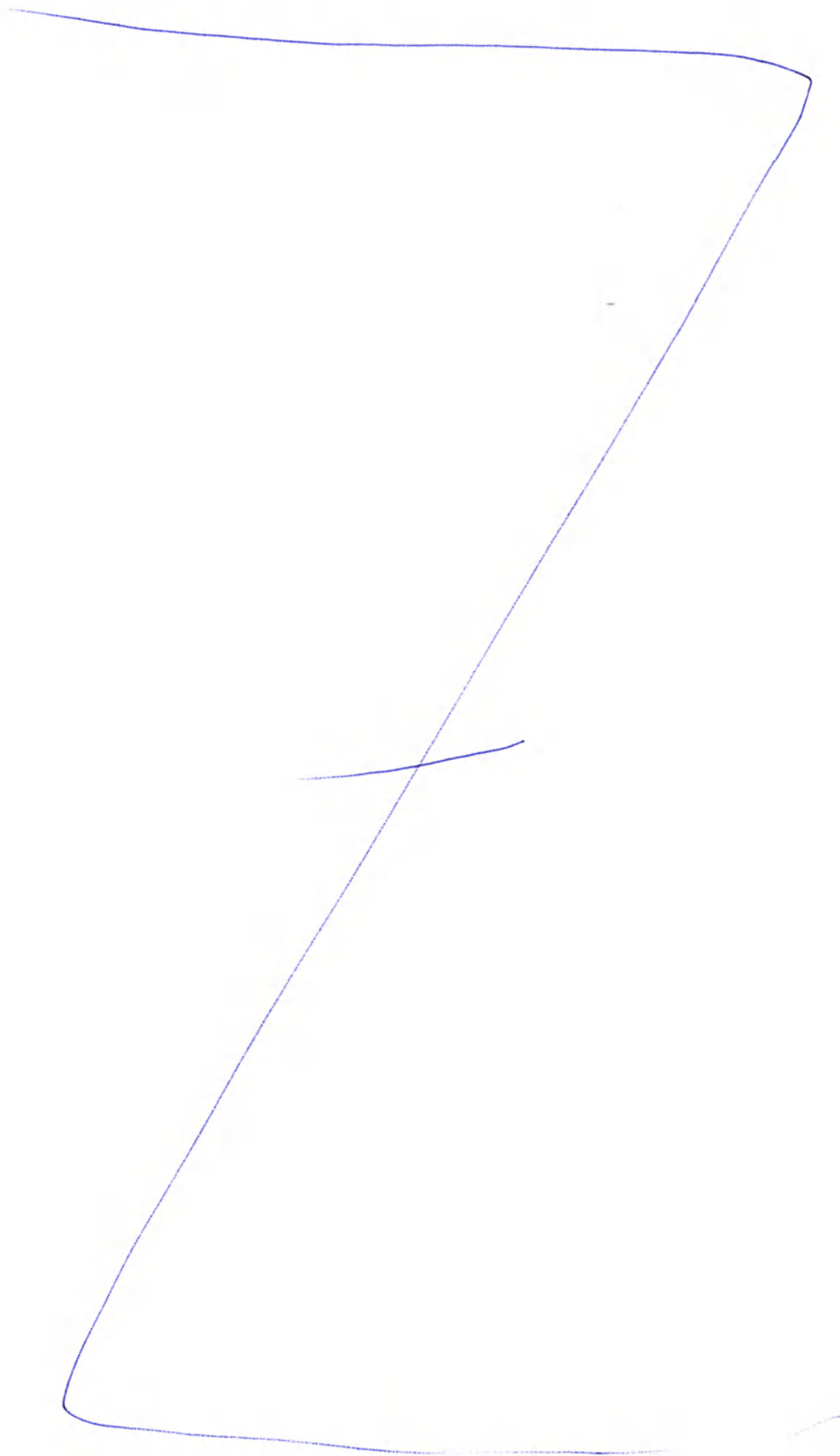
**ВНИМАНИЕ!** Установление диагноза и назначение лечения должны производиться врачом соответствующей специализации.

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам:

| Наименование ПЦР-смеси-1-FRT | Канал для флуорофора |                     |
|------------------------------|----------------------|---------------------|
|                              | FAM                  | JOE                 |
| HCV генотипы 1b/3a           | кДНК HCV генотип 1b  | кДНК HCV генотип 3a |
| HCV генотипы 1a/2            | кДНК HCV генотип 1a  | кДНК HCV генотип 2  |
| HCV ВКО/генотип 4            | кДНК ВКО             | кДНК HCV генотип 4  |
| HCV генотипы 5a/6            | кДНК HCV генотип 5a  | кДНК HCV генотип 6  |

**ВНИМАНИЕ!** К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш**, в котором указаны настройки для приборов и граничные значения порогового цикла ( $C_t$ ), необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов.





КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 3

лист 2

Руководитель службы регистрации медицинских изделий  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора  
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

« 22 » 05 2024 г.

М.П.

А.О.Лисицына

**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** 19.03.23

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа            | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| С(Ср) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6

**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** 19.03.23

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа            | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| С(Ср) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6



**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** A19.03.23

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µl с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа            | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| С(Ср) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6

**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** A19.03.23

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µl с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа            | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| С(Ср) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6



**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** 13.03.24

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа             | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Сt(Cp) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6

**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;  
Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** 13.03.24

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа             | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Сt(Cp) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6



**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;

Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** A13.03.24

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа             | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Сt(Cp) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6

**ВКЛАДЫШ**  
**к набору реагентов**  
**«АмплиСенс® HCV-генотип-FL»**

Форма 3 **REF** R-V1-G(1-4)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0253-1-3;

Форма 6 **REF** R-V1-G(1-6)-2x(RG,iQ,Mx,Dt,SC); **REF** H-0256-1-3

**LOT** A13.03.24

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Примечание – Задать **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Установить галочку **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**, если такая опция предусмотрена в ПО прибора.

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн. | Threshold/Порог | Dynamic tube/Динамич.фон | Slope Correct/Коррект. уклона | More Settings/Outlier Removal/Устранение выбросов |
|------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5FI до 10FI                                  | 0,03            | включена                 | включена                      | 8%                                                |
| JOE/Yellow | от 5FI до 10FI                                  | 0,035           | включена                 | включена                      | 8%                                                |

**Настройки для приборов планшетного типа**

CFX96

Примечание – Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C per second**

| Канал    | Threshold/Порог                                                                                      |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM, HEX | Установить уровень пороговой линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер |

**«ДТ-96» / «ДТпрайм»**

| Тип анализа             | Метод        | Каналы   | Критерий положительного результата ПЦР | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------------------|--------------|----------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Сt(Cp) для всех каналов | Пороговый Ct | Fam, Hex | 70 %                                   | 20 %                                           | 30 %                                      | Не использовать     | Отключить                        |

**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец             | Реакционная смесь | Канал для флуорофора | Граничное значение Ct  |                          |
|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
|                     |                   |                      | Приборы роторного типа | Приборы планшетного типа |
| K+1b/3a             | 1b/3a             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+1a/2              | 1a/2              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 29                     | 33                       |
| K+BKO/4             | BKO/4             | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 31                     | 35                       |
| K+5a/6*             | 5a/6              | FAM                  | 30                     | 34                       |
|                     |                   | JOE                  | 30                     | 34                       |
| ОКО                 | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |
| Исследуемые образцы | BKO/4             | FAM                  | 31                     | 35                       |

\* – входит только в состав «ПЦР-комплекта» вариант FRT-g1-6



КОПИЯ ВЕРНА  
Протоиито, пронумеровано и скреплено печатью: 4  
четыре лист а

«22» 05 2024 г. М.П. А.О.Лисицына

