

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для выявления и количественного определения РНК вируса гепатита D

методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени

«РеалБест РНК ВГД количественный»

ВВЕДЕНИЕ.

Вирус гепатита D (ВГД), также известный как дельта-вирус, является одним из вирусов, вызывающих инфекционный гепатит. Этот вирус относится к семейству *Kolmioviridae* и является самым маленьким из известных вирусов, содержащих РНК.

Особенностью вируса гепатита D является его зависимость от вируса гепатита В (ВГВ). Для репликации ВГД необходим поверхностный антиген ВГВ (HBsAg), используемый в качестве белка оболочки вирионов дельта-вируса.

Заражение гепатитом D может происходить как вместе с заражением гепатитом В (коинфекция), так и накладываться на хронический гепатит В (суперинфекция). В обоих случаях у пациентов проявляются более тяжёлые симптомы по сравнению с одним только гепатитом В. При коинфекции ВГД повышает риск развития острых тяжёлых и фульминантных форм заболевания (печеночная недостаточность, молниеносный гепатит, печеночная кома). В случае суперинфекции существенно повышается риск быстрого развития цирроза печени и увеличивается вероятность гепатоцеллюлярной карциномы.

Диагностика ВГД-инфекции осуществляется путем обнаружения антител к вирусу гепатита D. Для подтверждения диагноза, определения фазы инфекционного процесса проводится исследование на наличие РНК ВГД в сыворотке или плазме крови. Количественное определение РНК ВГД в крови методом ПЦР с обратной транскрипцией применяется для определения вирусной нагрузки у пациентов с выявленным ВГД при выборе адекватной терапии и оценке её эффективности.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления и количественного определения РНК вируса гепатита D методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени «РеалБест РНК ВГD количественный» предназначен для выявления и количественного определения РНК вируса гепатита D (ВГD) в сыворотке и плазме (с ЭДТА) крови методом, основанным на амплификации фрагмента кДНК (полученной методом обратной транскрипции из РНК) в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Набор реагентов используется для диагностики вирусного гепатита D у лиц с наличием поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в крови, а также для контроля эффективности лечения. Набор не имеет популяционных и демографических аспектов применения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации выбранных специфических фрагментов кДНК (полученных методом обратной транскрипции из РНК ВГD).

Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой. В основе регистрации процесса амплификации лежит измерение сигналов флуоресценции в каждом цикле ПЦР. Увеличение сигналов флуоресценции происходит благодаря использованию гибридационного ДНК-зонда, специфичного для выбранного участка кДНК возбудителя инфекции, который в ходе реакции связывается с одной из цепей ДНК, обеспечивая также дополнительную специфичность метода. ДНК-зонд содержит на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце – гаситель флуоресценции, значительно снижающий интенсивность флуоресценции. В ходе полимеразного синтеза комплементарной цепи, благодаря 5'-3'-нуклеазной активности Taq ДНК-полимеразы, зонд расщепляется с 5'-конца и происходит разобщение красителя и гасителя, приводящее по мере накопления продукта реакции к возрастанию сигнала флуоресценции (см. Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., & Gelfand, D. H. (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(16), 7276–7280. doi:10.1073/pnas.88.16.7276). Измеряемая интенсивность флуоресценции зависит от количества образовавшихся специфических

ампликонов и динамика нарастания флуоресценции определяется исходным количеством кДНК возбудителя инфекции в образце (см. Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., & Watson, R. (1993). *Kinetic PCR Analysis: Real-time Monitoring of DNA Amplification Reactions*. *Nature Biotechnology*, 11(9), 1026–1030. doi:10.1038/nbt0993-1026). При этом определяется значение порогового цикла (Ct) – номер цикла, на котором уровень флуоресцентного сигнала, появляющегося в ходе специфичной реакции амплификации, достоверно превышает фоновые колебания. Значение Ct и начальная концентрация целевой кДНК в пробе чётко связаны математической функцией (см., например: Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., ... Zoric, N. (2006). *The real-time polymerase chain reaction*. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(2-3), 95–125. doi:10.1016/j. tam.2005.12.007). Соответствие значений Ct и численных значений концентрации кДНК ВГД в исследуемых образцах устанавливается в каждой постановке за счёт использования положительного контрольного образца (ПКО), аттестованного относительно международного стандарта ВОЗ (PEI code 7657/12) в международных единицах на 1 мл анализируемого образца (МЕ/мл).

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

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) Описание.	Количество
Положительный контрольный образец (ПКО) Лиофилизированный	2 флакона
Готовая реакционная смесь для ОТ-ПЦР (ГРС) Лиофилизированная	96 пробирок
Раствор для восстановления контрольных образцов (РВК) Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05 %)	1 флакон, 4 мл
Оптическая пленка	1,5 листа
Завинчивающиеся крышки для флаконов с ПКО	2 шт
Вкладыш со штрих-кодом	1 шт

Положительный контрольный образец (ПКО) аттестован относительно стандарта ВОЗ «1st WHO International Standard for Hepatitis D Virus RNA» (PEI code 7657/12)

В комплект поставки входят:

- набор реагентов;
- инструкция по применению и паспорт (количество копий определяется в договоре на поставку продукции).

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

2.3. Условия применения.

Аналитические и диагностические характеристики набора были валидированы при выделении НК из сыворотки и плазмы крови с использованием наборов для выделения нуклеиновых кислот «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия, РУ РЗН 2014/1423), «РеалБест УниМаг» (АО «Вектор-Бест», Россия, РУ РЗН 2017/5985).

Набор применяется с регистрирующими амплификаторами планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- термоблок для пробирок объемом 0,2 мл;
- каналы детекции: «FAM», «ROX»;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- средняя скорость нагрева не менее 2,0 °С /сек;
- средняя скорость охлаждения не менее 1,0 °С/сек;
- точность поддержания температуры не более $\pm 0,3$ °С;
- однородность температуры не более $\pm 0,6$ °С.

Валидированы следующие амплификаторы: «CFX96» (Bio-Rad Laboratories, Inc., США, РУ № ФСЗ 2008/03399), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229), «FLUORITE» (Xi'an TianLong, Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2022/16415).

По вопросам применения амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

Запуск программы амплификации и анализ результатов может производиться с помощью программного обеспечения «GP.РеалБест Диагностика» (размещено на сайте <http://www.vector-best.ru>).

Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные образцы.

Показания к применению.

Набор реагентов используется для диагностики вирусного гепатита D у лиц с наличием поверхностного антигена (HBsAg) вируса гепатита В (HBsAg) в крови, а также для контроля эффективности лечения. Набор не имеет популяционных и демографических аспектов применения.

Противопоказаний к применению. медицинского изделия нет (не применимо).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность

За аналитическую чувствительность принята величина концентрации РНК ВГD, для

которой при экспериментальной проверке на 45 повторах с использованием каждого из заявленных амплификаторов и наборов для выделения НК был получен положительный результат в 100% случаев.

Набор гарантированно выявляет РНК ВГД в концентрации 8 МЕ/мл при использовании для выделения НК наборов: «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг». Контролируется при выпуске набора реагентов тестированием образцов, приготовленных из стандартного образца предприятия с соответствующим содержанием РНК ВГД.

3.2. Диапазон определяемых концентраций (линейный диапазон): от 8 до 10^8 МЕ/мл.

Тест на «линейность» – характеризует совпадение (в %) измеренного значения и предписанного значения (вычисленного с учётом фактора разведения) логарифма концентрации РНК ВГД в образце, приготовленном разведением из СОП. Значение «линейности» находится в пределах 90-110%.

3.3. Воспроизводимость - коэффициент вариации значений логарифма концентрации РНК ВГД не превышает 10 %.

3.4. Аналитическая специфичность:

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

Аналитическая специфичность была подтверждена анализом клинических образцов, содержащих НК вирусов других типов: вирусов гепатитов А, В, С, вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1), вируса ветряной оспы (VZV, герпесвирус человека тип 3), вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ, герпесвирус человека тип 4), цитомегаловируса (ЦМВ, герпесвирус человека тип 5), вируса простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1,2), герпесвируса человека тип 6 (ВГЧ-6). Перекрестно реагирующих НК вирусов других типов обнаружено не было.

3.5. Диагностические характеристики:

- диагностическая чувствительность выявления РНК ВГД: клинические испытания, проведенные на 41 положительном образце, показали 100% чувствительность (интервал 91,4% - 100%, с доверительной вероятностью 95%);

- диагностическая специфичность выявления РНК ВГД: клинические испытания, проведенные на 51 отрицательном образце, показали 100% специфичность (интервал 93,0% - 100%, с доверительной вероятностью 95%).

3.6. Потенциально интерферирующие вещества.

Для выделения РНК при работе с набором реагентов используются зарегистрированные в установленном порядке наборы реагентов для выделения

нуклеиновых кислот из клинических образцов – «РеалБест экстракция 100», «РеалБест УниМаг» производства АО «Вектор-Бест». При использовании данных наборов в соответствии с инструкциями по их применению не ожидается влияние интерферентов, которые могут присутствовать в образцах сыворотки (плазмы) крови.

В клинических испытаниях подтверждено отсутствие влияния потенциально интерферирующих веществ в образцах сыворотки (плазмы) крови (гемоглобина до 5 г/л, билирубина до 0,2 мг/мл (350 мкмоль/л), триглицеридов до 30 мг/мл, альбумина до 90 мг/мл, интерферона альфа до 275 МЕ/мл, ламивудина до 0,0015 мг/мл, энтекавира до 0,0082 мкг/мл) на результаты определения концентрации РНК ВГД.

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

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению НК возбудителей гепатита, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике. К работе с набором допускается только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получивший дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (например, врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник (фельдшер-лаборант), иной специалист).

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

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения НК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

4.5. При работе с набором необходимо надевать одноразовые медицинские перчатки, использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.6. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов

переменного объёма, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

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

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова», 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– регистрирующий амплификатор планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, соответствующий требованиям, описанным в п. 2.3. данной инструкции (например, «CFX96» (Bio-Rad Laboratories, Inc., США, РУ № ФСЗ 2008/03399), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229) или «FLUORITE» (Xi'an TianLong, Science and Technology Co., Ltd., Китай, РУ № РЗН 2022/16415));

– ПЦР-бокс (например, бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01- "Ламинар-С", ЗАО «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07111);

– холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;

– микроцентрифуга, типа «Eppendorf» для пробирок вместимостью 2 мл, обеспечивающая 13000 об/мин (например, «MiniSpin», Eppendorf Manufacturing Corporation, США, РУ № ФСЗ 2012/13316);

- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» (например, «Bio-Vortex V-1 plus», BioSan, Латвия, РУ № ФСЗ 2011/09797);
- дозаторы одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками (например, Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия, РУ № РЗН 2019/9356);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером (например, Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия, РУ № РЗН 2020/9707);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (например, перчатки «NeoTouch», Ansell HealthCare, Германия);
- штативы для микропробирок вместимостью 2 мл и 0,2 мл (например, штативы ООО «НПФ Хеликон», Россия, РУ № РЗН 2022/16372);
- контейнер для сбора отходов («Контейнер для сбора острого инструментария – МК-01», КМ-Проект, Россия, РУ № РЗН 2017/5395);
- нож канцелярский или ножницы.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

При проведении работ с клиническими образцами в лаборатории, включая процесс выделения НК из них, необходимо обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Для анализа используются пробы выделенной РНК, полученные из клинических образцов (сыворотки крови, плазмы крови с ЭДТА) с помощью наборов производства АО «Вектор-Бест», разрешенных в установленном порядке к обращению в РФ, согласно инструкции по применению соответствующего набора.

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения РНК, должна содержать 3 ПКО (если анализ качественный, достаточно одного ПКО), который является компонентом данного набора, и отрицательный контрольный образец (ОКО), который является компонентом набора для выделения. Объём элюции – 200 мкл.

Выделенную РНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

6.2.1. Подготовка ПКО к процедуре выделения РНК.

Вскрыть флакон с ПКО, удалив пластиковую крышку и резиновую пробку. Снятые крышку и пробку поместить в контейнер с дезинфицирующим раствором. Добавить 1 мл РВК, плотно закрыть флакон новой пластиковой крышкой, входящей в состав набора. Аккуратно перемешать, выдержать 15 мин при температуре (18-26) °С, после чего вновь тщательно перемешать.

После восстановления ПКО хранить при (2-8) °С не более 1 месяца или аликвотами по

120 мкл при температуре минус (18–24) °С не более 3 месяцев.

После вскрытия флакона РВК хранить при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

6.2.2. Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре (18-26) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа или ножниц отрезать необходимое количество по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: (1 ОКО и 3 ПКО (1 ПКО для качественного анализа)), пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

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

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество пробирок с ГРС по числу подготовленных образцов, включая контрольные образцы, пронумеровать (если необходимо) и расположить в штативе.

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок.

7.2. Аккуратно удалить плёнку, закрывающую пробирки.

Внимание! При удалении плёнки следите, чтобы вместе с ней не была удалена ГРС.

В каждую пробирку дозатором, используя для каждого образца индивидуальный наконечник с фильтром, внести по 50 мкл раствора выделенной РНК. Время от начала внесения в ГРС до запуска ОТ-ПЦР должно быть не более 30 минут.

7.3. Заклеить пробирки оптической плёнкой.

Внимание! Нельзя наносить на оптическую плёнку какие-либо надписи. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!

Для повышения эффективности и скорости смешивания компонентов перемешать содержимое пробирок в мини-шейкере с частотой вращения 1200–1800 об/мин в течение 1 минуты.

7.4. Поместить пробирки в амплификатор.

При использовании программного обеспечения прибора:

7.5. Запрограммировать прибор для проведения реакции ОТ-ПЦР в соответствии с инструкцией к прибору.

Протокол проведения реакции амплификации:

1 стадия: 45 °С – 15 минут*;

2 стадия: 94 °С – 1 минута;

3 стадия: 50 циклов (94 °С – 10 секунд,

60 °C – 20 секунд)**.

*При необходимости 1 стадия может быть увеличена до 30 минут.

**Измерение флуоресценции проводить при 60 °C.

7.6. Выбрать каналы детекции результатов амплификации кДНК ВКО и кДНК ВГД:

«FAM» – для регистрации сигнала кДНК ВКО;

«ROX» – для регистрации сигнала кДНК ВГД

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

7.8. Запустить амплификатор для выполнения заданного протокола.

При использовании программы «GP.РеалБест Диагностика»:

- запустить программное обеспечение «GP.РеалБест Диагностика»;
- со вкладыша со штрих-кодом ввести данные штрих-кода набора;
- запрограммировать положение пробирок с исследуемыми и контрольными образцами;
- запустить программу амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов.

8.1.1. В ПКО программа должна фиксировать:

- нарастание сигнала амплификации кДНК ВКО (канал «FAM») и определять значение порогового цикла C_t ВКО;
- нарастание сигнала амплификации кДНК ВГД (канал «ROX») и определять значение порогового цикла C_t ПКО.

8.1.2. В ОКО программа должна фиксировать нарастание сигнала амплификации кДНК ВКО (канал «FAM») и определять C_t ВКО, при этом программа не должна регистрировать нарастание сигнала специфического продукта амплификации кДНК по каналу «ROX».

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

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

8.2. Учёт результатов.

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

оставшихся значений.

8.2.2. Анализируемый образец считается положительным (содержащим РНК ВГД), если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» меньше или равно 40.

8.2.3. Анализируемый образец считается отрицательным (не содержащим РНК ВГД), если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» больше 40 или не определяется.

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

8.2.4. В случае контаминации все положительные результаты по данной индивидуальной постановке ОТ-ПЦР, считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

При использовании программного обеспечения «GP.РеалБест Диагностика» все описанные выше операции по анализу и учёту результатов выполняются программой.

8.3. Количественный учёт результатов

Для количественного анализа рассчитать концентрацию РНК ВГД в исследуемых образцах в соответствии с Приложением.

При использовании программного обеспечения «GP.РеалБест Диагностика» расчёт концентрации выполняется программой.

8.3.1. Если вычисленное значение концентрации РНК ВГД в образце находится в диапазоне от 8 до 10^8 МЕ РНК ВГД/мл, результат определяется как положительный с указанием полученной концентрации РНК ВГД в образце (в МЕ/мл).

8.3.2. Если вычисленное значение концентрации РНК ВГД больше 10^8 МЕ, то результат рекомендуется интерпретировать как положительный с концентрацией РНК ВГД «больше 10^8 МЕ/мл».

8.3.3. Если вычисленное значение концентрации РНК ВГД меньше 8 МЕ/мл, то результат рекомендуется интерпретировать как положительный с концентрацией РНК ВГД «меньше 8 МЕ/мл».

8.3.4. Анализируемый образец учитывается как отрицательный (не содержащий РНК ВГД), если для этого образца значение C_t по каналу «ROX» больше 40 или не определяется.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на

транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. После восстановления ПКО хранить при (2-8) °С не более 1 месяца или аликвотами по 120 мкл при температуре минус (18–24) °С не более 3 месяцев.

После вскрытия флакона РВК хранить при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

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

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

9.6. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

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

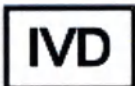
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел.: (383) 252-51-62, 227-60-30; тел./факс: (383), 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-75.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Температурный диапазон
	Код партии		Дата изготовления
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Использовать до....	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Начальник отделения
производства ПЦР-наборов
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор

Т.И. Поспелова

М.П.



ПРИЛОЖЕНИЕ

Расчёт концентрации РНК ВГД

Определение концентрации РНК ВГД в исследуемых образцах следует производить по приведенным ниже формулам.

1. Вычислить среднее значение порогового цикла для ПКО ($C_{тпко\text{ср}}$) по каналу ROX.

Отбраковке подлежат результаты анализа образцов ПКО, для которых $C_{тпко}$ отличается более чем на 2 от значения $C_{тпко\text{ср}}$. После отбраковки вычислить $C_{тпко\text{ср}}$ для оставшихся образцов.

2. Вычислить концентрацию РНК ВГД в каждом исследуемом образце (C_k) по формуле:

$$C_k = C_{тпко} \times 2^{X_k} \text{ (МЕ)},$$

где:

$$X_k = C_{тпко\text{ср}} - C_{тk};$$

$C_{тпко\text{ср}}$ – среднее значение C_t для образцов ПКО;

$C_{тпко}$ – концентрация РНК ВГД в ПКО, приведенная во вкладыше со штрих-кодом к набору, МЕ/мл;

k – номер образца;

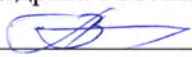
$C_{тk}$ – значение C_t данного образца, по каналу ROX.

Таким образом, будет получена концентрация РНК ВГД в данном образце, выраженная в МЕ/мл.



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 14 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

 Захарова Л.Н.
"13" 11 20 24 г.

