

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



«17» декабря 2024 г.

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для качественного определения генотипов по мутации 657delG(T)4 в гене *NBN* методом ПЦР

**АмплиСенс® NBN-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

IVD

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....                                                                     | 3  |
| НАЗНАЧЕНИЕ.....                                                                             | 3  |
| ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....                             | 4  |
| ПРИНЦИП МЕТОДА.....                                                                         | 4  |
| ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ .....                                                                    | 5  |
| АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....                                                           | 5  |
| ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....                                                         | 6  |
| МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....                                                                  | 7  |
| СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....                                                                 | 8  |
| ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ .....                                               | 9  |
| ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..                               | 11 |
| ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....                                     | 12 |
| ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ<br>ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..... | 13 |
| ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ .....                                                           | 14 |
| ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ .....                                                | 14 |
| ФОРМА 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F .....                                              | 15 |
| СОСТАВ .....                                                                                | 15 |
| АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ».....                                  | 15 |
| А. Подготовка проб для амплификации .....                                                   | 16 |
| Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» ..                      | 17 |
| В. Анализ и интерпретация результатов.....                                                  | 18 |
| СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ .....                                   | 21 |
| ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ .....                                                | 22 |
| СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ .....                                            | 23 |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

|                                                |                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| АмплиСенс® NBN-FL                              | – Набор реагентов для качественного определения генотипов по мутации 657delG(T)4 в гене <i>NBN</i> методом ПЦР<br>АмплиСенс® NBN-FL                                                              |
| ДНК                                            | – дезоксирибонуклеиновая кислота                                                                                                                                                                 |
| K1+, K2+, K3+                                  | – положительные контроли ПЦР                                                                                                                                                                     |
| K–                                             | – отрицательный контроль ПЦР                                                                                                                                                                     |
| МУ                                             | – методические указания                                                                                                                                                                          |
| ОК                                             | – отрицательный контроль экстракции                                                                                                                                                              |
| ОКО                                            | – отрицательный контрольный образец                                                                                                                                                              |
| ПО                                             | – программное обеспечение                                                                                                                                                                        |
| ПЦР                                            | – полимеразная цепная реакция                                                                                                                                                                    |
| РУ                                             | – регистрационное удостоверение                                                                                                                                                                  |
| СанПиН                                         | – санитарные правила и нормы                                                                                                                                                                     |
| УДГ                                            | – урацил-ДНК-гликозилаза                                                                                                                                                                         |
| 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 |
| Ct                                             | – cycle threshold (пороговый цикл)                                                                                                                                                               |
| FL                                             | – ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией                                                                                                                                                   |
| FRT                                            | – флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»                                                                                                                                           |
| <i>NBN</i>                                     | – ген нибрина                                                                                                                                                                                    |
| rs                                             | – reference SNP (идентификационный номер полиморфного ДНК-локуса в международных базах данных SNP)                                                                                               |

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов АмплиСенс® NBN-FL предназначен для качественного определения генотипов по мутации 657delG(T)4 (rs587776650, 657del5) в гене *NBN* в биологическом материале (цельная венозная кровь) человека методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для определения генетической предрасположенности к синдрому Ниймеген.

Ограничения по применению медицинского изделия в различных популяционных и демографических группах отсутствуют.

Потенциальные пользователи медицинского изделия: к работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники (например, врач клинико-диагностической

лаборатории, фельдшер-лаборант), обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.

## **ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ**

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для определения генетической предрасположенности к синдрому Ниймеген.

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

## **ПРИНЦИП МЕТОДА**

Принцип тестирования основывается на амплификации участка геномной ДНК человека, содержащего мутацию 657delG(T)4 в гене *NBN*, с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

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

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

Аллель-специфичные флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды позволяют определять гомо- и гетерозиготное состояние по анализируемой генетической мутации.

Определение аллелей мутации осуществляется по каналам флуоресцентной детекции, указанным в табл.1:

Таблица 1

| Канал для флуорофора | FAM                     | JOE                        |
|----------------------|-------------------------|----------------------------|
| ДНК-мишень           | rs587776650<br>657G(T)4 | rs587776650<br>657delG(T)4 |
| Область амплификации | NBN                     | NBN                        |

## ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

### Форма 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F

Форма 1 рассчитана на 55 реакций амплификации, включая контроли, и используется для проведения амплификации ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

### Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2

| Вид исследуемого материала | Объем образца для экстракции, мкл | Комплект для экстракции ДНК | Комплект для амплификации       | Аналитическая чувствительность (предел обнаружения), копий/мл |
|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Цельная венозная кровь     | 100                               | «РИБО-преп»                 | «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F | $1 \times 10^4$                                               |

Данный предел обнаружения достигается при соблюдении правил, указанных в разделах «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала» и «Подготовка исследуемого материала к экстракции ДНК».

### Аналитическая специфичность

Набор реагентов определяет генотипы по мутации 657delG(T)4 в гене *NBN*.

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании модельных образцов, которые представляли собой стандартные образцы предприятия, содержащие ДНК гомо- и гетерозигот по мутации 657delG(T)4, с концентрацией  $2 \times 10^4$  копий/мл.

При проведении тестирования неспецифических реакций и неправильного определения генотипов по мутации 657delG(T)4 в гене *NBN* в исследуемых образцах выявлено не было.

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 модельных образцов, которые представляли собой стандартные образцы предприятия, содержащие ДНК гомо- и гетерозигот по мутации 657delG(T)4, с концентрацией  $1 \times 10^4$  копий/мл каждого. Каждый образец был протестирован в 10 повторах.

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 разных серий набора реагентов. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

| Генотип                           | Повторяемость       |                           | Воспроизводимость   |                           |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|
|                                   | Количество образцов | Совпадение результатов, % | Количество образцов | Совпадение результатов, % |
| Гомозигота 657G(T)4               | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
| Гомозигота 657delG(T)4            | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |
| Гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4 | 10                  | 100                       | 40                  | 100                       |

### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностические характеристики набора реагентов определяли на 227 образцах геномной ДНК человека. В качестве референтного метода был использован набор реагентов на основе ПЦР, зарегистрированный в Российской Федерации в установленном порядке. При проведении тестирования расхождений между двумя методами выявлено не было.

**Диагностические характеристики набора реагентов  
АмплиСенс® NBN-FL**

| Вид исследуемого материала | Диагностическая чувствительность <sup>1</sup><br>(с доверительной вероятностью 95%) | Диагностическая специфичность <sup>2</sup><br>(с доверительной вероятностью 95%) |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Цельная венозная кровь     | 100 (93,51 – 100) %                                                                 | 100 (93,51 – 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 одnorазового 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 клиничко-диагностической лаборатории в

<sup>1</sup> Относительная чувствительность в сравнении с использованным референтным методом.

<sup>2</sup> Относительная специфичность в сравнении с использованным референтным методом.

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<sup>3</sup>, 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

<sup>3</sup> Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

санитарно-противоэпидемических мероприятий».

(профилактических)

**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**

Перечисленные ниже дополнительные материалы и оборудование, относящиеся к категории медицинских изделий и зарегистрированные на территории Российской Федерации или Евразийского экономического союза, не имеют ограничений по совместному использованию с данным набором реагентов, кроме позиций, для которых указаны конкретные примеры.

### **Взятие исследуемого материала**

1. Вакуумные пробирки или одноразовая система для взятия венозной крови для лабораторных исследований *in vitro*.
2. Иглы стерильные двусторонние трубчатые к вакуумным пробиркам для взятия венозной крови для лабораторных исследований *in vitro*.

### **Предварительная подготовка исследуемого материала**

3. Реагент для предобработки цельной венозной крови (например, реагент для предобработки цельной периферической и пуповинной крови «ГЕМОЛИТИК» (РУ № ФСР 2010/09505)).
4. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.
5. Завинчивающиеся крышки к пробиркам.
6. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и 1000 мкл.
7. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.
8. Бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
9. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g.
10. Центрифуга-вортекс.
11. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой

для удаления надосадочной жидкости.

12. Автоматические дозаторы переменного объема.
13. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
14. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
15. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

### **Экстракция ДНК из исследуемых образцов**

16. Реагент 1-кратный ТЕ-буфер (10мМ Трис/HCl, 1 мМ ЭДТА, pH 8,0).
17. Комплект реагентов для экстракции ДНК (например, «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147)).
18. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.

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

19. 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 выпуклой 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 или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – при использовании прибора роторного типа.
20. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200 и до 1000 мкл.
21. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл или 0,2 мл, или 0,1 мл.
22. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс, УФ-бокс) или бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
23. Центрифуга-вортекс.
24. Автоматические дозаторы переменного объема.

25. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595)), Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториез, Инк.»), США (РУ № ФСЗ 2008/03399)), ДТ-96/«ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия (РУ № ФСР 2007/01250, РУ № ФСР 2011/10229))).
26. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
27. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
28. Емкость для сброса наконечников.

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

Материалом для исследования служит цельная венозная кровь.

Для получения образцов цельной венозной крови взятие крови провести одноразовой иглой диаметром 0,8-1,1 мм в пробирку (специальную вакуумную систему) с раствором ЭДТА в качестве антикоагулянта. После взятия крови пробирку несколько раз плавно перевернуть вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и экстракция ДНК станет невозможной!) После перемешивания пробирку поместить в штатив.

Допускается хранение образцов цельной венозной крови до проведения предобработки:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов с момента получения материала;
- при температуре от 2 до 8 °С – не более 1 суток.

Недопустимо замораживание образцов цельной венозной крови!

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

## ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Образцы цельной венозной крови при использовании комплекта реагентов «РИБО-преп» требуют предварительной подготовки с использованием реагента «ГЕМОЛИТИК»:

В пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл внести 1 мл гемолитика (производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) и 0,1 мл крови. Аккуратно перемешать содержимое пробирки на вортексе и оставить на 10 мин, периодически перемешивая. Центрифугировать пробирки на микроцентрифуге при 4 тыс g (например, 8 тыс об/мин для микроцентрифуги MiniSpin) в течение 2 мин. Надосадочную жидкость отобрать с помощью вакуумного отсасывателя, не задевая осадка. После отмывки осадок клеток должен быть белым, допускается наличие только небольшого налета розоватого цвета над осадком (остатки разрушенных эритроцитов). При необходимости можно повторить отмывку гемолитиком. Полученный осадок лейкоцитов должен быть немедленно лизирован (в случае экстракции с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» добавить 300 мкл раствора для лизиса и в последующем экстрагировать ДНК в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов «РИБО-преп», не добавляя раствор для лизиса повторно) или заморожен.

Допускается хранение и транспортирование замороженного осадка:

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 2 недель;
- при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

При использовании других комплектов реагентов для экстракции ДНК подготовка исследуемого материала к экстракции проводится при необходимости в соответствии с инструкцией к применяемому комплекту реагентов.

## ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

### Ограничения по использованию проб

Непригодными для исследования являются:

- образцы цельной венозной крови, взятые в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта;
- образцы цельной венозной крови, содержащие кровяной сгусток или подвергшиеся заморозке.

### Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале (цельная венозная кровь), используемом для исследования.

Были протестированы образцы цельной венозной крови с известными генотипами без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Концентрация каждого потенциально интерферирующего вещества указана в табл. 5. Каждый образец тестировался в трех повторях. Генотип образцов цельной венозной крови был подтвержден набором реагентов на основе ПЦР, зарегистрированным в Российской Федерации в установленном порядке.

Таблица 5

| Вид потенциального интерферента | Потенциальный интерферент  | Протестированная концентрация в образце            | Наличие интерференции |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------|
| Эндогенные вещества             | Общий билирубин            | 210 мкмоль/л (верхняя граница нормы – 21 мкмоль/л) | Не обнаружено         |
|                                 | Общий холестерин           | 78 ммоль/л (верхняя граница нормы – 7,8 ммоль/л)   | Не обнаружено         |
|                                 | Триглицериды               | 37 ммоль/л (верхняя граница нормы – 3,7 ммоль/л)   | Не обнаружено         |
|                                 | Гемоглобин                 | 250 г/л (верхняя граница нормы – 170 г/л)          | Не обнаружено         |
| Экзогенные вещества             | Калий ЭДТА <sup>4</sup>    | до 2,0 мг/мл                                       | Не обнаружено         |
|                                 | Литий гепарин <sup>4</sup> | от 12 МЕ/мл                                        | <u>Обнаружено</u>     |

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

## ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- экстракция ДНК из исследуемых образцов,
- амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

## ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используется комплект реагентов «РИБО-преп». Порядок работы с комплектом реагентов «РИБО-преп» смотрите в инструкции к данному комплекту для экстракции.

### Объемы реагентов и образцов при экстракции:

Исследуемый образец – осадок, полученный после предобработки гемолитиком **100 мкл** цельной венозной крови.

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

Объем элюции – **50 мкл**.

# **ФОРМА 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F**

## **СОСТАВ**

**«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F** – комплект реагентов для амплификации участка ДНК человека, содержащего мутацию 657delG(T)4 в гене *NBN*, с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – включает:

| Реагент                    | Описание                                                    | Объем, мл | Количество, шт. |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------|-----------------|
| <b>Часть 1 из 2</b>        |                                                             |           |                 |
| К+ ДНК ОНКО 1              | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1               |
| К+ ДНК ОНКО 2              | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1               |
| К+ ДНК ОНКО 3              | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1               |
| К–                         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1               |
| ОКО                        | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 1,2       | 1               |
| <b>Часть 2 из 2</b>        |                                                             |           |                 |
| ПЦР-смесь-FL <i>NBN</i>    | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1               |
| ПЦР-буфер-С                | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,3       | 1               |
| Полимераза ( <i>TaqF</i> ) | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,03      | 1               |

Реагенты комплекта упакованы отдельно в соответствии с температурой хранения (см. раздел «Хранение»).

**Эксплуатационная документация:** инструкция по применению (1 шт.), паспорт качества (1 шт.), вкладыш (1 шт.), краткое руководство (1 шт.) – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя ([www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru)).

## **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 ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

Перед проведением ПЦР рекомендуется определить концентрацию ДНК в полученных экстрагированных

образцах и, при необходимости, развести выделенную ДНК ТЕ-буфером до оптимальной концентрации 10-30 нг в реакцию (соответствует концентрации выделенной ДНК  $3 \times 10^5 - 9 \times 10^5$  копий/мл).

#### **А. Подготовка проб для амплификации**

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси. На одну реакцию требуется **10 мкл ПЦР-смеси-FL NBN, 5 мкл ПЦР-буфера-С и 0,5 мкл полимеразы (TaqF)**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в п.7) плюс запас на несколько реакций.

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

2. Разморозить пробирки с **ПЦР-смесью-FL NBN, ПЦР-буфером-С и полимеразой (TaqF)**. Перемешать содержимое пробирок с **ПЦР-смесью-FL NBN, ПЦР-буфером-С и полимеразой (TaqF)**, осадить капли на вортексе.
3. В отдельной пробирке приготовить реакционную смесь. Смешать необходимое количество **ПЦР-смеси-FL NBN, ПЦР-буфера-С и полимеразы (TaqF)**, осадить капли на вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** Приготовленную смесь хранить не более 2 ч.

4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов.
5. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** приготовленной реакционной смеси. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и разведенных до оптимальной концентрации. В случае хранения ДНК-проб перед использованием пробирки с ними необходимо встряхнуть на вортексе и центрифугировать при 10 тыс g в течение 30 сек.

7. Поставить контрольные реакции:

- а) **положительный контроль ПЦР (K1+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K+ ДНК ОНКО 1**.
- б) **положительный контроль ПЦР (K2+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K+ ДНК ОНКО 2**.
- в) **положительный контроль ПЦР (K3+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K+ ДНК ОНКО 3**.
- г) **отрицательный контроль ПЦР (K–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл K–**.
- д) **отрицательный контроль экстракции (OK)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из **ОКО**.

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

1. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется:
  - а) перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
  - б) в случае неполной загрузки приборов планшетного типа дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.
2. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» и запустить выполнение программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 6).

Таблица 6

**Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала «АмплиСенс» для приборов роторного<sup>5</sup> и планшетного<sup>6</sup> типа**

| Цикл | Температура, °C | Время  | Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров | Количество циклов |
|------|-----------------|--------|-------------------------------------------------------------|-------------------|
| 1    | 50              | 15 мин | –                                                           | 1                 |
| 2    | 95              | 15 мин | –                                                           | 1                 |
| 3    | 95              | 10 с   | –                                                           | 45                |
|      | 60              | 20 с   | FAM, JOE                                                    |                   |

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

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

**ВНИМАНИЕ!** С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала назначается и по другим используемым каналам, кроме указанных. Если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК, можно удалить из данной программы первый шаг обратной транскрипции (50 °C – 15 минут) для экономии времени.

## **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, по двум каналам:

Таблица 7

| Канал для флуорофора | FAM      | JOE         |
|----------------------|----------|-------------|
| ДНК-мишень           | 657G(T)4 | 657delG(T)4 |

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

Результаты интерпретируют на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла ( $C_t$ ). Особенности установки пороговой линии для приборов планшетного и роторного типа приведены во вкладыше с настройками, прилагаемом к набору реагентов. Принцип интерпретации результатов описан ниже.

### **Определение генотипа по мутации 657delG(T)4 в гене *NBN***

1. Для каждого образца анализируются значения пороговых циклов ( $C_t$ ) по каналам для флуорофоров FAM и JOE.
2. Если для исследуемого образца по каналу для флуорофора FAM определено значение  $C_t$ , равное или меньше граничного, а по каналу для флуорофора JOE значение  $C_t$

отсутствует или разница между значениями  $C_t$  по каналам для флуорофоров JOE и FAM ( $\Delta C_t$  (JOE/FAM)) больше граничной, то образец является **гомозиготой 657G(T)4**.

3. Если для исследуемого образца по каналу для флуорофора JOE определено значение  $C_t$ , равное или меньше граничного, а по каналу для флуорофора FAM значение  $C_t$  отсутствует или разница между значениями  $C_t$  по каналам для флуорофоров FAM и JOE ( $\Delta C_t$  (FAM/JOE)) больше граничной, то образец является **гомозиготой 657delG(T)4**.
4. Если для исследуемого образца по каналам для флуорофоров FAM и JOE определено значение  $C_t$ , равное или меньше граничного, и разница значений  $C_t$  по модулю между каналами для флуорофоров FAM и JOE ( $\Delta C_t$  (FAM/JOE)) меньше граничной, то образец является **гетерозиготой 657G(T)4/657delG(T)4**.
5. Если для исследуемого образца разница значений  $C_t$  по модулю между каналами для флуорофоров FAM и JOE ( $\Delta C_t$  (FAM/JOE)) превышает граничное значение для гетерозиготы и меньше граничного значения для гомозиготы, то результат данного образца **невалиден**.
6. Если для исследуемого образца значение  $C_t$  по обоим каналам больше граничного, то результат анализа данного образца **невалиден**.

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

**Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации ДНК в соответствии с табл. 8 и вкладышем с настройками, прилагаемым к набору реагентов.**

### Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования

| Конт-<br>роль | Контролируемый<br>этап ПЦР-<br>исследования | Значение порогового цикла ( $C_t$ ) по каналу для<br>флуорофора                                                  |                                                                                                                  |
|---------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               |                                             | FAM                                                                                                              | JOE                                                                                                              |
| ОК            | Экстракция ДНК                              | Отсутствует или больше<br>граничного                                                                             | Отсутствует или больше<br>граничного                                                                             |
| К–            | ПЦР                                         | Отсутствует или больше<br>граничного                                                                             | Отсутствует или больше<br>граничного                                                                             |
| K1+           | ПЦР                                         | <u>Определено</u> не более<br>граничного                                                                         | Отсутствует или разница<br>между значениями $C_t$ по<br>каналам для флуорофоров<br>JOE и FAM больше<br>граничной |
| K2+           | ПЦР                                         | Отсутствует или разница<br>между значениями $C_t$ по<br>каналам для флуорофоров<br>FAM и JOE больше<br>граничной | <u>Определено</u> не более<br>граничного                                                                         |
| K3+           | ПЦР                                         | <u>Определено</u> не более<br>граничного                                                                         | <u>Определено</u> не более<br>граничного                                                                         |

#### Возможные ошибки

1. Для положительного контроля ПЦР (K1+ и/или K2+, и/или K3+) значение порогового цикла ( $C_t$ ) не соответствует критериям, указанным в табл. 8. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К–) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE определено значение порогового цикла ( $C_t$ ) меньше граничного. 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.
3. Для отрицательного контроля экстракции (ОК) по каналам для флуорофоров FAM и/или JOE определено значение порогового цикла ( $C_t$ ) меньше граничного. 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, начиная с этапа экстракции ДНК.

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

**Срок годности.** 15 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. После вскрытия первичной упаковки реагенты должны быть использованы в течение срока годности набора реагентов, если в инструкции не указано иное.

**Транспортирование.** Транспортирование проводить в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Набор реагентов (часть 1 и часть 2) транспортировать при температуре от 2 до 8°C не более 10 сут. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 26°C не более 5 сут.

### **Хранение.**

Реагенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

**Форма 1.** «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F состоит из двух частей, хранящихся при разных температурах:

- часть 1 (К+ ДНК ОНКО 1, К+ ДНК ОНКО 2, К+ ДНК ОНКО 3, К–, ОКО) хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С;
- часть 2 (ПЦР-смесь-FL NBN, ПЦР-буфер-С и полимераз (TaqF)) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL NBN 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 установленного 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, дом 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



Содержимого достаточно  
для проведения <n> тестов



Код партии



Использовать до



Медицинское изделие  
для диагностики *in vitro*



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



Дата изменения



Не допускать воздействия  
солнечного света



Температурный  
диапазон



Дата изготовления



Изготовитель



Осторожно

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 23  
двадцать три лист а

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

« 14 » декабря 20 24 г.  
м.п.

А.О. Тисицына



Всего пронумеровано,  
прошнуровано и скреплено  
печатью 23 листа(ов)  
Директор ГБУЗ МО МОНИКИ  
им.М.Ф.Владимирского  
Соболев К.Э.





Инструкция по применению набора  
реагентов расположена на сайте  
[www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru)



Краткое руководство

набор реагентов  
**АмплиСенс® NBN-FL**

Форма 1: **REF** S-4631-1



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 ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

**Комплекты для экстракции:** «РИБО-преп».  
**Контроли:** Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

| Объем исследуемого образца, контроля и элюции  |                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| При экстракции с помощью «РИБО-преп» добавить: |                                                                                                                                                |
| Исследуемый образец                            | осадок, полученный после предобработки гемолитиком 100 мкл цельной венозной крови (порядок подготовки исследуемого материала см. в инструкции) |
| ОКО                                            | 100 мкл в пробирку для ОК                                                                                                                      |
| Элюция                                         |                                                                                                                                                |
| все образцы                                    | 50 мкл в каждую пробирку                                                                                                                       |

## ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ С ПОМОЩЬЮ «ПЦР-комплекта» вариант FRT-50 F

Объем реакционной смеси: 25 мкл, включая объем пробы ДНК (10 мкл).

Контроли: для каждой группы амплифицируемых образцов 3 положительных (K1+, K2+, K3+) и 1 отрицательный (-) контроли ПЦР, 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

- Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления реакционной смеси.

- Разморозить пробирки с ПЦР-смесью-FL NBN, ПЦР-буфером-С и полимеразой (TaqF).

- В отдельной пробирке подготовить реакционную смесь.

| Компонент реакционной смеси | Объем, мкл          | Обозначения                                                                    |
|-----------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ПЦР-смесь-FL NBN            | $10 \cdot (N+K+1)$  | 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.

**ВНИМАНИЕ!** Приготовленную смесь хранить не более 2 ч.

- Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для амплификации ДНК исследуемых и контрольных образцов:

| Внести по 15 мкл                                                                                    |                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Приготовленной реакционной смеси                                                                    | в каждую пробирку                   |
| Внести по 10 мкл                                                                                    |                                     |
| Проб ДНК, экстрагированных из исследуемых образцов и разведенных до концентрации 10-30 нг в реакцию | в пробирки для исследуемых образцов |
| Пробы ДНК, экстрагированной из ОК                                                                   | в пробирку для ОК                   |
| K-                                                                                                  | в пробирку для K-                   |
| K+ ДНК ОНКО 1                                                                                       | в пробирку для K1+                  |
| K+ ДНК ОНКО 2                                                                                       | в пробирку для K2+                  |
| K+ ДНК ОНКО 3                                                                                       | в пробирку для K3+                  |

## АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется:

а) перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе,

б) в случае неполной загрузки приборов планшетного типа дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.

- Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» и запустить выполнение программы амплификации.

**ВНИМАНИЕ!** С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов, включая тесты с обратной транскрипцией и амплификацией. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала назначается и по другим используемым каналам, кроме указанных. Если в одном приборе одновременно проводятся тесты только для выявления ДНК, можно удалить из данной программы первый шаг обратной транскрипции (50 °C – 15 минут) для экономии времени.

| Цикл | Программа амплификации для приборов роторного и планшетного типа |        |                                                       |                   |
|------|------------------------------------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------|-------------------|
|      | Температура, °C                                                  | Время  | Детекция флуоресц. сигнала по каналам для флуорофоров | Количество циклов |
| 1    | 50                                                               | 15 мин | –                                                     | 1                 |
| 2    | 95                                                               | 15 мин | –                                                     | 1                 |
| 3    | 95                                                               | 10 с   | –                                                     | 45                |
|      | 60                                                               | 20 с   | FAM, JOE                                              |                   |

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

## АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам:

| Канал для флуорофора | FAM      | JOE         |
|----------------------|----------|-------------|
| ДНК-мишень           | 657G(T)4 | 657delG(T)4 |

**ВНИМАНИЕ!** К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш с настройками**, в котором указаны граничные значения порогового цикла (Ct), необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов.

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 2

два

лист а

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



« 18 » декабря 2024 г.  
М.П.

А.О.Лисицына

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Набор реагентов для качественного определения генотипов по  
мутации 657delG(T)4 в гене *NBN* методом ПЦР  
АмплиСенс® NBN-FL

|         |                         |                                                                                              |
|---------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Форма 1 | <div>LOT</div> 20.11.24 |  2024-11-20 |
|         |                         |  2026-02-20 |

ТУ 20.59.52-463-01897593-2023.  
Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

1. Технические характеристики:

| Наименование показателя                                                                                                   | Норма                                                                                                                                                          | Результаты контроля |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Отрицательный результат для образца ОК (отрицательный контроль экстракции)                                                | Значение <i>Ct</i> отсутствует или определено больше граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                           | соответствует       |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 1 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналу для флуорофора FAM                                                                                 | соответствует       |
|                                                                                                                           | Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналу для флуорофора JOE или разница между значениями <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров JOE и FAM больше граничной       |                     |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 2 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналу для флуорофора JOE                                                                                 | соответствует       |
|                                                                                                                           | Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналу для флуорофора FAM или разница между значениями <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM и JOE больше граничной       |                     |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 3 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                                         | соответствует       |
| Отрицательный результат для образца К– (отрицательный контроль ПЦР)                                                       | Значение <i>Ct</i> отсутствует или определено больше граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                           | соответствует       |
| Определены генотипы 2-х тестируемых образцов ДНК человека по мутации 657delG(T)4 (rs587776650, 657del5) в гене <i>NBN</i> | Значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM и JOE соответствуют одному из вариантов, приведенных во вкладыше к набору реагентов для исследуемых образцов | соответствует       |

2. Состав, внешний вид:

| Наименование реагента | Характеристика и нормы                                      | Результаты контроля | В составе формы комплектации |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| Часть 1 из 2          |                                                             |                     |                              |
| К+ ДНК ОНКО 1         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К+ ДНК ОНКО 2         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К+ ДНК ОНКО 3         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К–                    | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| ОКО                   | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| Часть 2 из 2          |                                                             |                     |                              |
| ПЦР-смесь-FL NBN      | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | соответствует       | 1                            |
| ПЦР-буфер-С           | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| Полимераза (TaqF)     | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |

3. Условия транспортирования и хранения:  
**Транспортирование.** Транспортирование проводить в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Набор реагентов (часть 1 и часть 2) транспортировать при температуре от 2 до 8°C не более 10 сут. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 26°C не более 5 сут.

зачисление.

агенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F состоит из двух частей, хранящихся при разных температурах:

- часть 1 (К+ ДНК ОНКО 1, К+ ДНК ОНКО 2, К+ ДНК ОНКО 3, К-, ОКО) хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С;
- часть 2 (ПЦР-смесь-FL NBN, ПЦР-буфер-С и полимеразы (TaqF)) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL NBN хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи

20.11.24

Руководитель ЦКК



(подпись)

(Коды О.И.)  
(Ф.И.О.)

## ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

Набор реагентов для качественного определения генотипов по  
мутации 657delG(T)4 в гене *NBN* методом ПЦР  
АмплиСенс® NBN-FL

|                |                      |                                                                                                     |
|----------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Форма 1</b> | <b>LOT</b> A20.11.24 |  <b>2024-11-20</b> |
|                |                      |  <b>2026-02-20</b> |

ТУ 20.59.52-463-01897593-2023.

Комплектность, упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ.

### 1. Технические характеристики:

| Наименование показателя                                                                                                   | Норма                                                                                                                                                          | Результаты контроля |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Отрицательный результат для образца ОК (отрицательный контроль экстракции)                                                | Значение <i>Ct</i> отсутствует или определено больше граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                           | соответствует       |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 1 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналу для флуорофора FAM                                                                                 | соответствует       |
|                                                                                                                           | Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналу для флуорофора JOE или разница между значениями <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров JOE и FAM больше граничной       |                     |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 2 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналу для флуорофора JOE                                                                                 | соответствует       |
|                                                                                                                           | Значение <i>Ct</i> отсутствует по каналу для флуорофора FAM или разница между значениями <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM и JOE больше граничной       |                     |
| Положительный результат для образца К+ ДНК ОНКО 3 (положительный контроль ПЦР)                                            | Определено значение <i>Ct</i> не более граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                                         | соответствует       |
| Отрицательный результат для образца К- (отрицательный контроль ПЦР)                                                       | Значение <i>Ct</i> отсутствует или определено больше граничного по каналам для флуорофоров FAM и JOE                                                           | соответствует       |
| Определены генотипы 2-х тестируемых образцов ДНК человека по мутации 657delG(T)4 (rs587776650, 657del5) в гене <i>NBN</i> | Значения <i>Ct</i> по каналам для флуорофоров FAM и JOE соответствуют одному из вариантов, приведенных во вкладыше к набору реагентов для исследуемых образцов | соответствует       |

### 2. Состав, внешний вид:

| Наименование реагента | Характеристика и нормы                                      | Результаты контроля | В составе формы комплектации |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| <b>Часть 1 из 2</b>   |                                                             |                     |                              |
| К+ ДНК ОНКО 1         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К+ ДНК ОНКО 2         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К+ ДНК ОНКО 3         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| К-                    | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| ОКО                   | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| <b>Часть 2 из 2</b>   |                                                             |                     |                              |
| ПЦР-смесь-FL NBN      | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | соответствует       | 1                            |
| ПЦР-буфер-С           | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |
| Полимераза (TaqF)     | Прозрачная бесцветная жидкость                              | соответствует       | 1                            |

### 3. Условия транспортирования и хранения:

**Транспортирование.** Транспортирование проводить в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств. Набор реагентов (часть 1 и часть 2) транспортировать при температуре от 2 до 8°C не более 10 сут. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 26°C не более 5 сут.

нение.

агенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F состоит из двух частей, хранящихся при разных температурах:

- часть 1 (К+ ДНК ОНКО 1, К+ ДНК ОНКО 2, К+ ДНК ОНКО 3, К-, ОКО) хранить в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С;
- часть 2 (ПЦР-смесь-FL NBN, ПЦР-буфер-С и полимераза (TaqF)) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL NBN хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

Дата выдачи

20.11.24

Руководитель ГЛК



(подпись)

(Коды О.И.)

(Ф.И.О.)

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 4  
четыре лист а

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



А.О.Лисицына

**ВКЛАДЫШ с настройками  
к набору реагентов  
АмплиСенс® NBN-FL**

**Форма 1: REF S-4631-1**
**LOT 20.11.24**
**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation... /<br>Опт.уровня сигн. | Dynamic tube /<br>Динамич.фон | Slope Correct /<br>Коррект. уклона | More settings/Outlier Removal/<br>Устранение выбросов |
|------------|------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5 FI до 10 FI                                     | включена                      | включена                           | 10%                                                   |
| JOE/Yellow | от 5 FI до 10 FI                                     | включена                      | включена                           | 10%                                                   |

**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/sec**.

ДТ-96/«ДТпрайм»

| Тип анализа | Метод          | Канал        | Критерий положительного результата ПЦР | Величина Threshold | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------|----------------|--------------|----------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Ct(Cp)      | Пороговый (Ct) | Fam, Hex/R6G | 90 %                                   | 10 StD             | 5% F(Cp)                                       | 30% F(Cp)                                 | Не использовать     | Включить                         |

**Установка пороговой линии для приборов планшетного и роторного типа**

| Канал для флуорофора | Threshold/Порог                                                                                                                                                    |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM                  | Пороговая линия первоначально* устанавливается на уровне, соответствующем <b>10 %</b> от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца К+ ДНК ОНКО 1 |
| JOE                  | Пороговая линия первоначально* устанавливается на уровне, соответствующем <b>10 %</b> от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца К+ ДНК ОНКО 2 |

**\*ВНИМАНИЕ!** Если модуль разницы значений пороговых циклов (Ct) между двумя каналами для флуорофоров (FAM и JOE) для К+ ДНК ОНКО 3 превышает **0,5**, пороговые линии корректируются до достижения разницы значений Ct между каналами менее 0,5 по модулю.

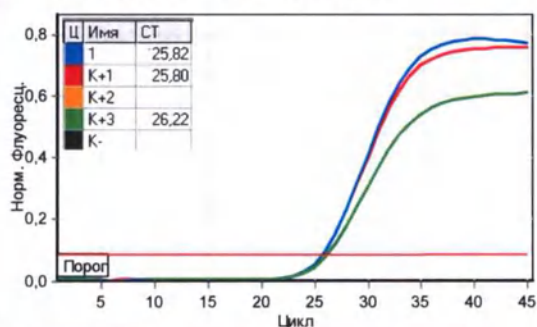
**Граничные значения порогового цикла Ct**

| Образец/генотип                                      | Приборы роторного типа                 |                                        | Приборы планшетного типа               |                                        |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
|                                                      | Канал для флуорофора                   |                                        |                                        |                                        |
|                                                      | FAM                                    | JOE                                    | FAM                                    | JOE                                    |
| К+ ДНК ОНКО 1                                        | ≤ 30,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 | ≤ 33                                   | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 |
| К+ ДНК ОНКО 2                                        | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 30,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 33                                   |
| К+ ДНК ОНКО 3                                        | ≤ 30,5                                 | ≤ 30,5                                 | ≤ 33                                   | ≤ 33                                   |
| К–                                                   | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 39                | Ct отсутствует или > 39                |
| ОК                                                   | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 39                | Ct отсутствует или > 39                |
| NBN, rs587776650, гомозигота 657G(T)4                | ≤ 36,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 | ≤ 39                                   | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 |
| NBN, rs587776650, гомозигота 657delG(T)4             | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 36,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 39                                   |
| NBN, rs587776650, гетерозигота 657G(T)4/ 657delG(T)4 | ≤ 36,5                                 | ≤ 36,5                                 | ≤ 39                                   | ≤ 39                                   |
|                                                      | ΔCt (FAM/JOE)   < 1                    |                                        | ΔCt (FAM/JOE)   < 1                    |                                        |

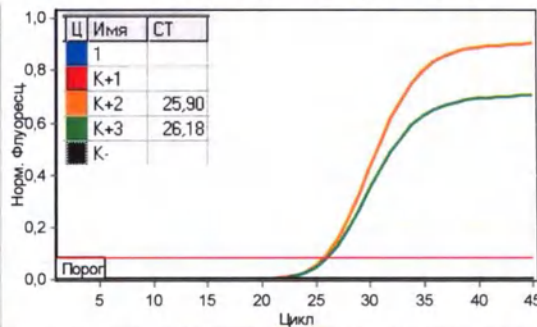
ПРИЛОЖЕНИЕ К ВКЛАДЫШУ по применению набора реагентов АмплиСенс® NBN-FL  
Примеры интерпретации результатов анализа исследуемых образцов, полученных на приборе Rotor-Gene:

#### Гомозигота 657G(T)4

Анализ по каналу FAM/Green

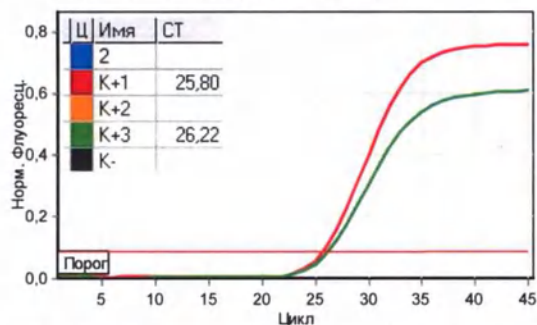


Анализ по каналу JOE/Yellow

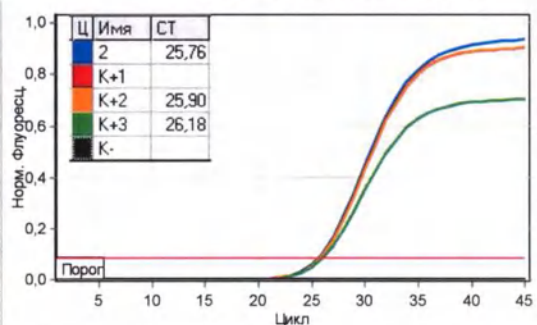


#### Гомозигота 657delG(T)4

Анализ по каналу FAM/Green

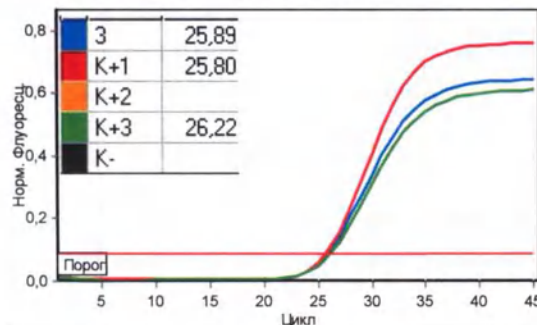


Анализ по каналу JOE/Yellow

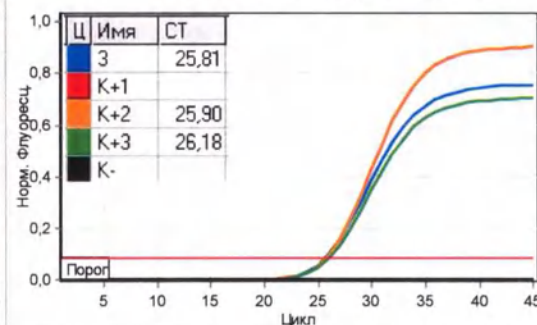


#### Гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4

Анализ по каналу FAM/Green



Анализ по каналу JOE/Yellow



| Образец             | Значения Ct |              |             | Граничные значения Ct по каналам для флуорофоров |                                                | Результат                         |
|---------------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------|
|                     | FAM / Green | JOE / Yellow | $\Delta Ct$ | FAM                                              | JOE                                            |                                   |
| К+ ДНК ОНКО 1       | 25,80       | —            | —           | $\leq 30,5$                                      | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (JOE/FAM) > 5$ | Соответствует                     |
| К+ ДНК ОНКО 2       | —           | 25,90        | —           | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (FAM/JOE) > 5$   | $\leq 30,5$                                    | Соответствует                     |
| К+ ДНК ОНКО 3       | 26,22       | 26,18        | 0,04        | $\leq 30,5$                                      | $\leq 30,5$                                    | Соответствует                     |
| К—                  | —           | —            | —           | Ct отсутствует или $> 36,5$                      | Ct отсутствует или $> 36,5$                    | Соответствует                     |
| Исследуемый образец | 25,82       | —            | —           | $\leq 36,5$                                      | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (JOE/FAM) > 5$ | Гомозигота 657G(T)4               |
|                     | —           | 25,76        | —           | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (FAM/JOE) > 5$   | $\leq 36,5$                                    | Гомозигота 657delG(T)4            |
|                     | 25,89       | 25,81        | 0,08        | $\leq 36,5$                                      | $\leq 36,5$                                    | Гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4 |
|                     |             |              |             | $ \Delta Ct(FAM/JOE)  < 1$                       |                                                |                                   |

**ВКЛАДЫШ с настройками  
к набору реагентов  
АмплиСенс® NBN-FL**

 Форма 1: **REF** S-4631-1

**LOT** A20.11.24

**Настройки для приборов роторного типа**

Rotor-Gene 3000/6000/Q

| Канал      | Calibrate/Gain Optimisation... /<br>Опт.уровня сигн. | Dynamic tube /<br>Динамич.фон | Slope Correct /<br>Коррект. уклона | More settings/Outlier Removal/<br>Устранение выбросов |
|------------|------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| FAM/Green  | от 5 FI до 10 FI                                     | включена                      | включена                           | 10%                                                   |
| JOE/Yellow | от 5 FI до 10 FI                                     | включена                      | включена                           | 10%                                                   |

**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/sec**.

ДТ-96/«ДТпрайм»

| Тип анализа | Метод          | Канал        | Критерий положительного результата ПЦР | Величина Threshold | Нижняя граница/порог положительного результата | Верхняя граница/порог нормализации данных | Нормализация данных | Фитирование (сглаживание) данных |
|-------------|----------------|--------------|----------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| Ct(Cp)      | Пороговый (Ct) | Fam, Hex/R6G | 90 %                                   | 10 StD             | 5% F(Cp)                                       | 30% F(Cp)                                 | Не использовать     | Включить                         |

**Установка пороговой линии для приборов планшетного и роторного типа**

| Канал для флуорофора | Threshold/Порог                                                                                                                                                    |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FAM                  | Пороговая линия первоначально* устанавливается на уровне, соответствующем <b>10 %</b> от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца К+ ДНК ОНКО 1 |
| JOE                  | Пороговая линия первоначально* устанавливается на уровне, соответствующем <b>10 %</b> от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца К+ ДНК ОНКО 2 |

**\*ВНИМАНИЕ!** Если модуль разницы значений пороговых циклов (Ct) между двумя каналами для флуорофоров (FAM и JOE) для К+ ДНК ОНКО 3 превышает **0,5**, пороговые линии корректируются до достижения разницы значений Ct между каналами менее 0,5 по модулю.

**Граничные значения порогового цикла Ct**

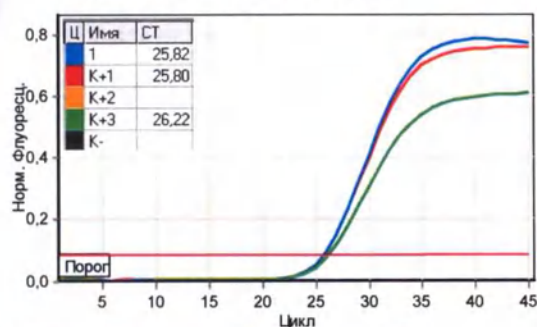
| Образец/генотип                                     | Приборы роторного типа                 |                                        | Приборы планшетного типа               |                                        |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
|                                                     | Канал для флуорофора                   |                                        |                                        |                                        |
|                                                     | FAM                                    | JOE                                    | FAM                                    | JOE                                    |
| К+ ДНК ОНКО 1                                       | ≤ 30,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 | ≤ 33                                   | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 |
| К+ ДНК ОНКО 2                                       | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 30,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 33                                   |
| К+ ДНК ОНКО 3                                       | ≤ 30,5                                 | ≤ 30,5                                 | ≤ 33                                   | ≤ 33                                   |
| К–                                                  | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 39                | Ct отсутствует или > 39                |
| ОК                                                  | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 36,5              | Ct отсутствует или > 39                | Ct отсутствует или > 39                |
| NBN, rs587776650, гомозигота 657G(T)4               | ≤ 36,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 | ≤ 39                                   | Ct отсутствует, либо ΔCt (JOE/FAM) > 5 |
| NBN, rs587776650, гомозигота 657delG(T)4            | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 36,5                                 | Ct отсутствует, либо ΔCt (FAM/JOE) > 5 | ≤ 39                                   |
| NBN, rs587776650, гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4 | ≤ 36,5                                 | ≤ 36,5                                 | ≤ 39                                   | ≤ 39                                   |
|                                                     | ΔCt (FAM/JOE)   < 1                    |                                        | ΔCt (FAM/JOE)   < 1                    |                                        |

# ПРИЛОЖЕНИЕ К ВКЛАДЫШУ по применению набора реагентов АмплиСенс® NBN-FL

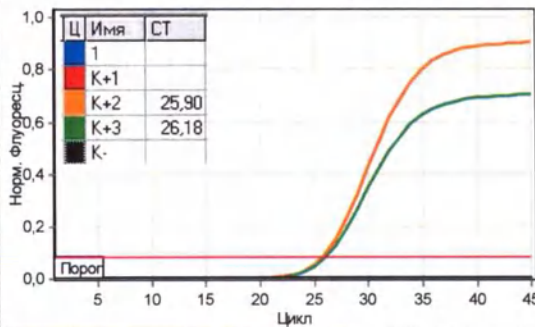
Примеры интерпретации результатов анализа исследуемых образцов, полученных на приборе Rotor-Gene:

## Гомозигота 657G(T)4

Анализ по каналу FAM/Green

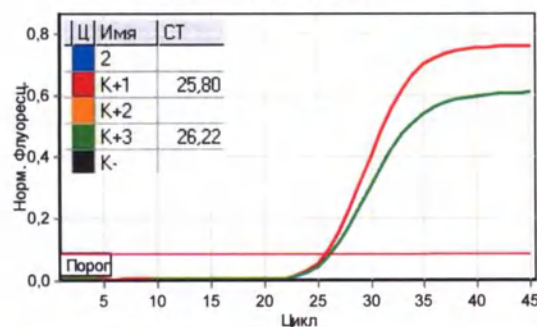


Анализ по каналу JOE/Yellow

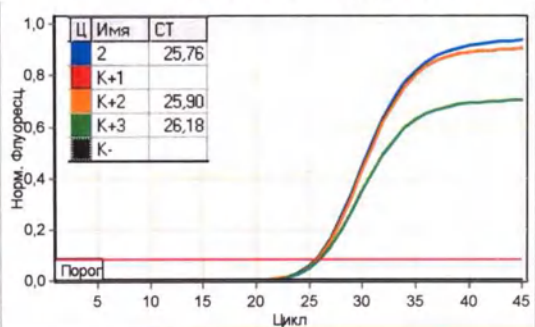


## Гомозигота 657delG(T)4

Анализ по каналу FAM/Green

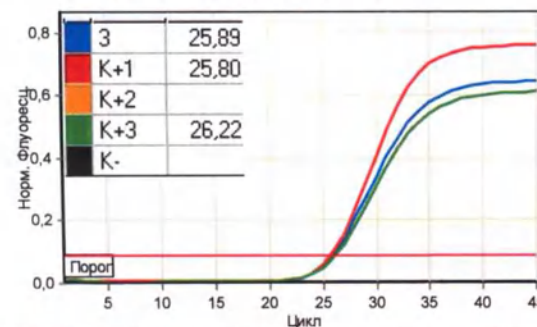


Анализ по каналу JOE/Yellow

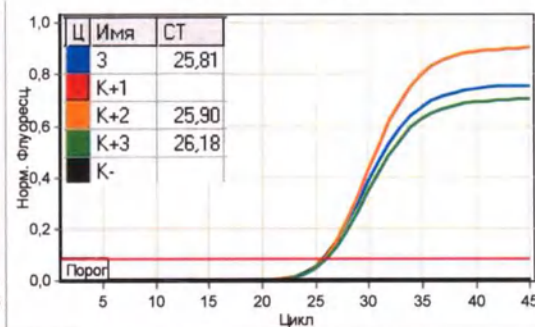


## Гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4

Анализ по каналу FAM/Green



Анализ по каналу JOE/Yellow



| Образец             | Значения Ct |              |             | Граничные значения Ct по каналам для флуорофоров |                                                | Результат                         |
|---------------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------|
|                     | FAM / Green | JOE / Yellow | $\Delta Ct$ | FAM                                              | JOE                                            |                                   |
| К+ ДНК ОНКО 1       | 25,80       | —            | —           | $\leq 30,5$                                      | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (JOE/FAM) > 5$ | Соответствует                     |
| К+ ДНК ОНКО 2       | —           | 25,90        | —           | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (FAM/JOE) > 5$   | $\leq 30,5$                                    | Соответствует                     |
| К+ ДНК ОНКО 3       | 26,22       | 26,18        | 0,04        | $\leq 30,5$                                      | $\leq 30,5$                                    | Соответствует                     |
| К—                  | —           | —            | —           | Ct отсутствует или $> 36,5$                      | Ct отсутствует или $> 36,5$                    | Соответствует                     |
| Исследуемый образец | 25,82       | —            | —           | $\leq 36,5$                                      | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (JOE/FAM) > 5$ | Гомозигота 657G(T)4               |
|                     | —           | 25,76        | —           | Ct отсутствует, либо $\Delta Ct (FAM/JOE) > 5$   | $\leq 36,5$                                    | Гомозигота 657delG(T)4            |
|                     | 25,89       | 25,81        | 0,08        | $\leq 36,5$                                      | $\leq 36,5$                                    | Гетерозигота 657G(T)4/657delG(T)4 |
|                     |             |              |             |                                                  | $ \Delta Ct (FAM/JOE)  < 1$                    |                                   |

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 4  
четыре лист а

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

«18» декабря 2024 г.  
М.П.

А.О.Лисицына

