

Набор реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV), РНК вируса гепатита С (HCV) и вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (HIV-1 и HIV-2) в биологическом материале методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» по ТУ 20.59.52-278-09286667-2026

АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1. НАЗНАЧЕНИЕ.....	6
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	6
2.1. Модели, состав и комплектность	6
2.2. Принцип метода.....	11
2.3. Техническое обслуживание и ремонт.....	12
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	13
3.1. Внутренний контроль качества.....	13
3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования	13
3.1.2. Контроль ингибирования	13
3.1.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	14
3.2. Рекомендуемые контрольные материалы.....	14
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	14
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	15
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	18
6.1. Взятие и предварительная обработка исследуемого материала.....	18
6.2. Экстракция НК из исследуемых образцов (для моделей 1, 2, 3, 4)	19
6.3. Экстракция НК из исследуемых образцов (для моделей 5, 6).....	19
6.4. Обратная транскрипция, амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов	21
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	23
7.1. Плазма крови	23
7.2. Сыворотка крови.....	24
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
8.1. Экстракция НК из исследуемого материала.....	24
8.1.1. При использовании модели 1, 2, 3	24
8.1.2. При использовании модели 4.....	26
8.1.3. При использовании модели 5.....	27
8.1.4. При использовании модели 6.....	30
8.2. Подготовка реагентов для ОТ-ПЦР.....	33
8.2.1. При использовании моделей 1 и 6.....	33
8.2.2. При использовании моделей 2, 3 и 5	34
8.2.3. При использовании модели 4.....	34
8.3. Внесение проб НК, проведение ОТ-ПЦР и детекции.....	34
8.4. Анализ и вычисление результатов	36
8.5. Интерпретация результатов.....	36
8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению	37
8.7. Диагностическое значение полученного результата	38
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	38
9.1. Предел обнаружения	38
9.2. Аналитическая специфичность	39
9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения.....	40
9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность.....	40
9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ	41
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА.....	42

10.1.	Срок годности	42
10.2.	Транспортирование	42
10.3.	Хранение	42
10.3.1.	Модель 1.....	42
10.3.2.	Модели 2 и 3	42
10.3.3.	Модель 4.....	43
10.3.4.	Модель 5.....	43
10.3.5.	Модель 6.....	44
11.	ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	44
12.	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	45

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ct	– Cycle threshold (пороговый цикл)
HBV	– вирус гепатита В (<i>Hepacivirus B</i>)
HCV	– вирус гепатита С (<i>Hepacivirus C</i>)
HIV-1	– вирус иммунодефицита человека 1 типа (<i>Human immunodeficiency virus type 1</i>)
HIV-2	– вирус иммунодефицита человека 2 типа (<i>Human immunodeficiency virus type 2</i>)
ВГВ	– вирусный гепатит В
ВГС	– вирусный гепатит С
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ВКО	– внутренний контрольный образец
ВОЗ	– всемирная организация здравоохранения
ЕРУЛ	– единый реестр учета лицензий
МАНК	– методы амплификации нуклеиновых кислот
МЕ	– международные единицы
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
дНТФ	– дезоксирибонуклеотидтрифосфаты
кДНК	– комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ОТ-ПЦР	– обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
НК	– нуклеиновая кислота
ПКО	– положительный контрольный образец
К-	– отрицательный контроль ОТ-ПЦР
ОКО	– отрицательный контрольный образец экстракции
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РНКаза	– рибонуклеаза
РУ	– регистрационное удостоверение
ТУ	– технические условия
УДГ	– урацил-ДНК-гликозилаза

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV), РНК вируса гепатита С (HCV) и вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (HIV-1 и HIV-2) в биологическом материале методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» по ТУ 20.59.52-278-09286667-2026.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2», а также сокращение Набор реагентов.

Метод амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) является основным способом тестирования донорской крови на наличие гемотрансмиссивных инфекций (ВИЧ, ВГС, ВГВ). Основными преимуществами МАНК перед серологическими тестами является высокая чувствительность, возможность выявлять инфекцию в период «серологического окна», возможность пулирования образцов, допускается возможность проведение исследования в формате мультиплексного анализа [4].

Вирусы иммунодефицита человека 1 и 2 типа принадлежат к семейству ретровирусов. ВИЧ-инфекция поражает клетки иммунной системы, что ведет к развитию иммунодефицита. Инфекция характеризуется длительным хроническим течением. Сероконверсии предшествует «серологическое окно», при котором количество вырабатываемых специфических антител к ВИЧ недостаточно для выявления серологическими методами. При этом вирусная нагрузка достаточно высока для передачи инфекции [1].

Вирус гепатита С является РНК-содержащим вирусом рода *Hepacivirus*. Вирус гепатита С является причиной двух нозологических состояний – острого гепатита С (В17.1) и хронического гепатита С (В18.2). Острый гепатит С часто протекает бессимптомно (до 90%), и в 20 – 60% излечивается спонтанно. При отсутствии спонтанного излечения в течении 6 месяцев острый вирусный гепатит переходит в хроническую форму. Хронический гепатит С без проведения лечения обычно заканчивается поражением печени, циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой. Основной путь передачи – гемоконтактный [3].

Вирус гепатита В – небольшой ДНК содержащий вирус, принадлежит к семейству *Hepadnaviridae*, род *Orthohepadnavirus*. Острый гепатит В характеризуется развитием циклически протекающего паренхиматозного гепатита с наличием или отсутствием желтухи, заканчивающегося у взрослых больных в большинстве случаев (до 90-95%) выздоровлением. При сохранении инфекции более 6 месяцев возрастает риск перехода заболевания в хроническую форму (хронический гепатит В) и формирования с течением времени у части больных цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [2].

Библиография:

1. Клинические рекомендации «ВИЧ инфекция у взрослых», 2024 год.
2. Клинические рекомендации «Острый гепатит В (ГВ) у взрослых», 2024 год.
3. Клинические рекомендации «Острый гепатит С (ОГС) у взрослых», 2023 год.
4. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 28 октября 2020 г. N 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов».

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» предназначен для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV), РНК вируса гепатита С (HCV) и вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (HIV-1 и HIV-2) в плазме крови и сыворотке крови методом ОТ-ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Может быть использован для скрининга биологического материала, полученного от доноров плазмы, цельной крови или ее компонентов.

1.2. Модели 1-4:

Материалом для проведения ОТ-ПЦР служат пробы НК, экстрагированные из исследуемого материала с помощью наборов реагентов, рекомендованных в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

Модели 5-6:

Материалом для проведения ОТ-ПЦР служат пробы НК, экстрагированные из исследуемого материала с помощью комплекта для экстракции, входящего в состав набора.

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для скрининга биологического материала на наличие гемотрансфузионных инфекций, вызываемых вирусами гепатита С, гепатита В и иммунодефицита человека 1 и 2 типов.

1.4. Показания к проведению исследования: Набор используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, в том числе полученного от доноров плазмы, цельной крови или ее компонентов, независимо от их возраста, с целью предотвращения передачи гемотрансмиссивных инфекций. Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания.

1.5. Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6. Потенциальные пользователи: Набор реагентов должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Модели, состав и комплектность

Набор реагентов выпускается в шести моделях (состав набора и комплектность поставки указаны в таблице 1 и 2 соответственно). Все модели предназначены для проведения реакции обратной транскрипции РНК и амплификации кДНК и ДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Для проведения полного исследования необходимо использовать комплект для экстракции, входящий в состав набора реагентов (для моделей 5, 6) или наборы реагентов для экстракции НК, рекомендованные в разделе «Дополнительное оборудование и материалы» (для моделей 1, 2, 3, 4).

Модель 1 включает смесь для проведения ОТ-ПЦР в пробирке объемом 1,5 или 2 мл для дозирования в любые типы пробирок. Модель предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 12 постановок. Модель может быть использована как для ручной раскапки, так и совместно с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей.

Модель 2 включает смесь для проведения ОТ-ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по стрипованным (12,5 стрипов по 8 пробирок) пробиркам объемом 0,2 мл. Модель предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 12 постановок.

Модель 3 включает смесь для проведения ОТ-ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по пробиркам объемом 0,2 мл. Модель предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типа и рассчитана на проведение исследования 100 образцов, включая контроли. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 12 постановок.

Модель 4 включает лиофилизированную смесь для проведения ОТ-ПЦР в стрипованных пробирках (12 стрипов по 8 пробирок) объемом 0,2 мл. Модель предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного типа и рассчитана на проведение исследования 96 образцов, включая контроли. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 12 постановок.

Модель 5 включает комплект для экстракции РНК/ДНК, рассчитанный на проведение экстракции РНК/ДНК из 96 образцов, и комплект для ОТ-ПЦР, рассчитанный на проведение амплификации 100 образцов, включая контроли. Комплект для экстракции может быть использован как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК. Комплект для ОТ-ПЦР включает смесь для проведения ОТ-ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по стрипованным (12,5 стрипов по 8 пробирок) пробиркам объемом 0,2 мл. Комплект для ОТ-ПЦР предназначен для применения совместно с амплификаторами планшетного типа. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 12 постановок.

Модель 6 включает комплект для экстракции РНК/ДНК, рассчитанный на проведение экстракции РНК/ДНК из 96 образцов, и комплект для ОТ-ПЦР, рассчитанный на проведение амплификации 100 образцов, включая контроли. Комплект для экстракции может быть использован как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК. Комплект для ОТ-ПЦР включает смесь для проведения ОТ-ПЦР в пробирке объемом 1,5 мл. Комплект для ОТ-ПЦР предназначен для применения совместно с амплификаторами роторного или планшетного типа и может быть использован как для ручной раскапки, так и совместно с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей. Объем положительного контрольного образца рассчитан не более чем на 8 постановок.

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Модель 1			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,90	2 пробирки	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость.
Буфер С	0,65	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Реагент TG	0,03	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий 1-тиоглицерол. Прозрачная жидкость.
Тaq полимераза	0,12	2 пробирки	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза А	0,03	2 пробирки	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,07	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО В	0,60	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	2 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
К-	0,60	2 пробирки	Отрицательный контроль ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
Модель 2			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,02	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок) ¹	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана в стрипованные пробирки под парафин белого цвета.
Буфер С	0,65	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Реагент TG	0,03	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий 1-тиоглицерол. Прозрачная жидкость.
Тaq полимераза	0,12	2 пробирки	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза А	0,03	2 пробирки	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,07	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО В	0,60	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	2 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
К-	0,60	2 пробирки	Отрицательный контроль ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
Модель 3			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,02	100 пробирок	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана под парафин белого цвета.
Буфер С	0,65	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Реагент TG	0,03	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий 1-тиоглицерол. Прозрачная жидкость.
Тaq полимераза	0,12	2 пробирки	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.

¹ Пробирки с голубым парафином не используются.

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Ревертаза А	0,03	2 пробирки	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,07	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО В	0,60	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,10	2 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
К-	0,60	2 пробирки	Отрицательный контроль ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
Модель 4			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyо	-	96 пробирок (12 стрипов по 8 пробирок)	Лиофилизированная ПЦР-смесь, содержащая специфические праймеры, флуоресцентно-меченые зонды, дНТФ, ионы двухвалентного магния, урацил-ДНК-гликозилазу, термостабильную ДНК-полимеразу Taq, декстран, трегалозу. Лиофилизат белого цвета.
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyо	-	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Лиофилизат белого цвета.
ВКО В Lyо	-	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Лиофилизат белого цвета.
ОКО	1,1	2 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
Разбавитель	1,2	2 пробирки	Раствор для восстановления ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyо, ВКО В Lyо. Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Модель 5			
Комплект для экстракции			
Буфер U1  Опасно	75	2 флакона	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ² .
Буфер U2  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость ^{2, 3} .
Буфер U3  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Реагент U  Опасно	1,1	4 пробирки	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.
Буфер U5	116	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер E1	15	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	4 пробирки	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
ОКО	4,5	4 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
Комплект для ОТ-ПЦР			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,02	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок) ⁴	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана в стрипованные пробирки под парафин белого цвета.

² При хранении Буфера U1 и Буфера U2 возможно образование осадка в виде кристаллов.

³ Цвет Буфера U2 может варьироваться от бесцветного до ярко-желтого.

⁴ Пробирки с голубым парафином не используются.

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Буфер С	0,65	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Реагент TG	0,03	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий 1-тиоглицерол. Прозрачная жидкость.
Тaq полимераза	0,12	2 пробирки	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза А	0,03	2 пробирки	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,07	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО В	0,60	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,60	2 пробирки	Отрицательный контроль ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
Модель 6			
Комплект для экстракции			
Буфер U1 	75	2 флакона	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ⁵ .
Опасно Буфер U2 	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость ^{5, 6} .
Опасно Буфер U3 	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Опасно Реагент U 	1,1	4 пробирки	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.
Опасно Буфер U5	116	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер E1	15	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	4 пробирки	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
ОКО	5,0	2 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
Разбавитель для ПКО	5,0	2 пробирки	Раствор для разведения ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2. Прозрачная жидкость.
Комплект для ОТ-ПЦР			
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	1,20	2 пробирки	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и ДНТФ. Прозрачная жидкость.
Буфер С	0,80	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Реагент TG	0,04	2 пробирки	Буферный раствор, содержащий 1-тиоглицерол. Прозрачная жидкость.
Тaq полимераза	0,15	2 пробирки	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза А	0,04	2 пробирки	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.

⁵ При хранении Буфера U1 и Буфера U2 возможно образование осадка в виде кристаллов.

⁶ Цвет Буфера U2 может варьироваться от бесцветного до ярко-желтого.

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	0,07	2 пробирки	Положительный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО В	0,80	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
К-	0,60	2 пробирки	Отрицательный контроль ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Модели 1-4		
Набор реагентов	Модель 1 или 2, или 3, или 4	1
Инструкция по применению	в электронном виде ⁷ по адресу: nextbio.ru	-
Краткое руководство	в бумажном виде	1
Комплект вкладышей	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: nextbio.ru	-
Модели 5-6		
Набор реагентов	Модель 5 или 6	1
Инструкция по применению	в электронном виде ⁷ по адресу: nextbio.ru	-
Краткое руководство (комплект для экстракции)	в бумажном виде	1
Краткое руководство (комплект для ОТ-ПЦР)	в бумажном виде	1
Комплект вкладышей	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: nextbio.ru	-

2.2. Принцип метода

Принцип тестирования основан на проведении обратной транскрипции (синтезе молекулы кДНК по молекуле РНК с использованием фермента обратная транскриптаза) и последующей амплификации фрагментов кДНК вируса гепатита С, вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типов, внутреннего контрольного образца (ВКО) и ДНК гепатита В.

При проведении экстракции НК из исследуемого материала с использованием комплекта для экстракции, входящего в состав набора (модель 5, 6), исследуемый образец в объеме 1000 мкл обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение нуклеиновых кислот (НК). Растворенные НК связываются с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне и с последующей отмывкой сорбента. При добавлении буфера для элюции НК к магнитному сорбенту происходит переход НК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

⁷ Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

С полученными на этапе экстракции пробами НК проводится реакция амплификации участков НК при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. Детекция продуктов амплификации происходит путем измерения флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» за счет использования в составе реакционной смеси флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов (зондов). Зонды гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой кДНК- или ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Набор содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и трифосфата дезоксиуридина. Фермент УДГ распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих дезоксиуридин, но не ДНК, содержащей дезокситимидин. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда присутствует в ампликонах, поскольку трифосфат дезоксиуридина входит в состав смеси дНТФ в реагентах для амплификации. Дезоксиуридин делает контаминирующие ампликоны восприимчивыми к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

Фермент УДГ термолабилен и инактивируется при нагревании выше 50 °С и поэтому не разрушает ампликоны мишени, нарабатываемые в процессе ПЦР.

На этапе амплификации в пробирке одновременно амплифицируются участки кДНК вируса гепатита С (HCV), вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типов (HIV-1, HIV-2), ДНК вируса гепатита В (HBV) и искусственной последовательности ВКО. Результаты амплификации регистрируются по пяти различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу).

Таблица 3

Соответствие НК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	FAM	R6G ⁸	ROX	Cy5	Cy5.5
НК-мишень	ВКО (экзогенный ВКО)	РНК HIV-1	РНК HCV	ДНК HBV	РНК HIV-2
Область амплификации	Искусственно синтезированная последовательность	5'-LTR, pol	5' UTR	X ген	5'-LTR

2.3. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

⁸ Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции НК и оценки влияния ингибиторов ОТ-ПЦР предусмотрено использование экзогенного ВКО – искусственной РНК-содержащей конструкции, которая вносится в каждый исследуемый образец биоматериала, отрицательный контрольный образец этапа экстракции и положительные контрольные образцы. Результаты исследования образцов должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов». Если результаты тестирования исследуемых образцов, полученные для ВКО, не соответствуют заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов», то результаты исследования данных образцов считаются невалидными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции.

Отрицательный контроль экстракции (ОКО) тестируется, начиная с этапа экстракции, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должны детектироваться РНК HCV, ДНК HBV, РНК HIV-1 и HIV-2. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца, заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов, в которых обнаружена РНК HCV, ДНК HBV, РНК HIV-1 или РНК HIV-2, и отрицательного контроля, начиная с этапа экстракции.

Отрицательный контроль ОТ-ПЦР (К-) тестируется, начиная с этапа ОТ-ПЦР, и позволяет дополнительно контролировать возможную контаминацию ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем ОТ-ПЦР не должна детектироваться НК выявляемых вирусов или ВКО. В случае несоответствия результата, полученного для контрольного образца заданным критериям валидности, положительные результаты для исследуемых образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех образцов, начиная с этапа ОТ-ПЦР.

В качестве положительного контрольного образца используется реагент ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo), входящий в состав набора. В случае несоответствия результатов для положительного контроля заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ОТ-ПЦР.

3.1.2. Контроль ингибирования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции НК и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено использование экзогенного ВКО (реагент ВКО В), который добавляется в каждый исследуемый и контрольные образцы на этапе экстракции. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности для положительных и отрицательных исследуемых образцов, указанным в разделе «Интерпретация результатов». Если в исследуемых образцах не обнаружена последовательность ВКО, то результаты исследования данных образцов считаются недостоверными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции.

3.1.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09. Также для предотвращения контаминации лаборатории или в качестве мер по деонтаминации рабочих зон рекомендуется использовать раствор для дезактивации нуклеиновых кислот, например, «Олигатор» производства ООО «НекстБио», Россия.

3.2. Рекомендуемые контрольные материалы

В качестве контрольных материалов для проверки заявленных функциональных характеристик набора могут быть использованы зарегистрированные на территории Российской Федерации панели контрольных образцов, предназначенные для проведения внутреннего и внешнего контроля качества лабораторных исследований по обнаружению РНК HIV-1, РНК HIV-2, РНК HCV и ДНК HBV.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Набор применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для работы только с исследуемым материалом, указанным в разделе «Назначение». Исследование других видов биологического материала может привести к получению недостоверных результатов.

4.3. Получение достоверных результатов обеспечивается выполнением требований, предъявляемых к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала (см. раздел «Исследуемый материал»).

4.4. С помощью набора возможно ПЦР-исследование только проб НК, экстрагированных из исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом – ВКО В. Без использования ВКО В невозможно провести оценку валидности постановки.

4.5. Набор предназначен для профессионального применения. Набор должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

4.6. При работе с набором следует использовать только амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала, характеристики которых удовлетворяют требованиям, указанным в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

4.7. Применять набор реагентов строго по назначению согласно инструкции по применению.

4.8. Не применять набор при нарушении целостности упаковки и с истекшим сроком годности.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением требований СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и 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». В соответствии с п. 4.4. МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» допускается проведение исследований биологического материала (без предварительного накопления возбудителя) на наличие ДНК (РНК) возбудителей ВИЧ-инфекции и парентеральных вирусных гепатитов в лаборатории, имеющей санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями III-IV группы патогенности.

5.2. Исследования по детекции нуклеиновых кислот должны проводиться в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

5.3. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁹, биологический материал¹⁰, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

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.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

⁹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

¹⁰ Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения исследования указанного количества образцов (см. раздел «Модели, состав и комплектность»).
- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).
- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не смешивать реагенты разных партий.
- Не использовать набор 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.
- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.
- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.
- Входящие в состав набора (модели 5 и 6) реагенты Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3 и Реагент U содержат опасные вещества, указанные в таблице 4. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, описаны в таблице 4. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 5.

Таблица 4

**Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с
Буфером U1, Буфером U2, Буфером U3 и Реагентом U**

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Буфер U1	изопропанол, гуанидин гидрохлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H312, H315, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер U2	изопропанол, гуанидин тиоцианат, тритон X-100	H225, H302, H312, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер U3	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Реагент U	протеиназа K	H315, H319, H334, H335	P261, P264, P271, P280, P284, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P342+P311, P362+P364, P403+P235, P405, P501

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H311: Токсично при контакте с кожей. H312: Вредно при контакте с кожей. H315: Вызывает раздражение кожи. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании. H334: При вдыхании может вызывать аллергические или астматические симптомы, или затруднение дыхания.	H335: Может вызывать раздражение дыхательных путей. H336: Может вызвать вялость или сонливость. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Хранить в плотно закрытой таре. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только неискрящие инструменты. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P284: В случае недостаточной вентиляции пользоваться средствами защиты органов дыхания. P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды. P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ. P304+P340: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз, снять их и продолжить промывание водой. P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией. P342+P311: При появлении респираторных симптомов: обратиться к врачу. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте. P405: Хранить в недоступном для посторонних месте. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами 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».

- Остальные реагенты, входящие в состав набора (кроме Taq полимеразы и Реагента TG), содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Реагент TG содержит 1-тиоглицерол в концентрации не более 1 % и соответственно не классифицируется как опасный и не требует соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Листы безопасности реагентов Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3 и Реагент U доступны по запросу.

- Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие и предварительная обработка исследуемого материала

6.1.1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/11892 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.2. Двухсторонняя игла для взятия крови в вакуумную пробирку, одноразовая, стерильная (например, система вакуумного забора крови Vacuette с принадлежностями, «Грейнер Био-Уан ГмбХ», Австрия, РУ № ФСЗ 2011/09314 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.3. Вакуумная пробирка для взятия крови с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитратом натрия) (например, система вакуумного забора крови Vacuette с принадлежностями, «Грейнер Био-Уан ГмбХ», Австрия, РУ № ФСЗ 2011/09314 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.4. Вакуумная пробирка для взятия крови с активатором свертывания крови (например, система вакуумного забора крови Vacuette с принадлежностями, «Грейнер Био-Уан ГмбХ», Австрия, РУ № ФСЗ 2011/09314 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.5. Вакуумная пробирка для взятия крови с активатором свертывания крови и гелем (например, система вакуумного забора крови Vacuette с принадлежностями, «Грейнер Био-Уан ГмбХ», Австрия, РУ № ФСЗ 2011/09314 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.6. Вакуумная пробирка для взятия крови без наполнителя (например, система вакуумного забора крови Vacuette с принадлежностями, «Грейнер Био-Уан ГмбХ», Австрия, РУ № ФСЗ 2011/09314 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.7. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл (например, наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/12077 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.8. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл (например, дозаторы пипеточные, одно- и многоканальные, «Лайт» по ТУ 9443-007-33189998-2007, АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия, РУ № ФСР 2007/01095 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.1.9. Центрифуга для вакуумных пробирок с ускорением не менее 800 g (например, центрифуга медицинская лабораторная LMC-3000 с принадлежностями, ООО «Биосан», Латвия, РУ № ФСЗ 2008/01792 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.2. Экстракция НК из исследуемых образцов (для моделей 1, 2, 3, 4)

6.2.1. Набор реагентов для экстракции нуклеиновых кислот, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- набор позволяет выделять НК из биологического материала (плазма крови и сыворотка крови) для последующего исследования методом ОТ-ПЦР;
- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 100 мкл;
- набор позволяет проводить элюцию очищенной НК в объеме не менее 50 мкл.

В ходе проведения испытаний валидацию прошли набор реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала «МагноПрайм® Ультра» по ТУ 21.20.23-163-09286667-2022 (ООО «НекстБио», Россия, ЕРУЛ Г004-00110-00/04186809), набор реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала «МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» по ТУ 20.59.52-269-09286667-2025 (ООО «НекстБио», Россия, ЕРУЛ Г004-00110-00/04049938) и комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» (ООО «НекстБио», Россия, РУ № ФСР 2012/14017).

6.2.2. Дополнительные материалы и оборудование, необходимые для экстракции НК, – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции НК.

6.3. Экстракция НК из исследуемых образцов (для моделей 5, 6)

6.3.1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 5 мл, свободные от ДНКаза и РНКаза (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/11892 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.2. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКаза и РНКаза (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/11892 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.3. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаза и РНКаза, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл (например, наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/12077 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл (например, наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/12077 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Корнинг Инкорпорейтед», США, РУ № ФСЗ 2009/05024 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.6. Штативы для пробирок объемом 5 мл (например, изделия медицинские вспомогательные для отбора и обработки биологических проб для лабораторных исследований, «АПТАКА С.П.А», Италия, РУ № ФСЗ 2011/09223 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.7. Магнитный штатив для пробирок объемом 1,5 мл и 5 мл (например, магнитный штатив для проведения экстракции нуклеиновых кислот для *in vitro* диагностики по ТУ 32.50.50-001-27278232-2021, ООО «НПФ Хеликон», Россия, РУ № РЗН 2022/16360 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.8. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, бокс абактериальной воздушной среды для защиты оператора при работе с патогенными агентами и микроорганизмами, передающимися воздушно-капельным путем БАВп-01-«Ламинар-С.» по ТУ 9443-003-51495026-2004, ЗАО «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07111 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.9. Вортекс (например, встряхиватель медицинский вибрационный типа «Vortex» («Вортекс») V-3, «СИА «ЭЛМИ», Латвия, РУ № РЗН 2017/5466 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.10. Термостат для пробирок объемом 1,5 мл и 5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С (например, термостат типа «Драй-блок» TDB-120, ООО «Биосан», Латвия, РУ № РЗН 2018/7729 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.11. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости (например, отсасыватель медицинский ОМ-1 по ТУ1-720-0033-92, АО «УКБП», Россия, РУ № ФСР 2010/08928 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.12. Автоматические дозаторы переменного объема (например, дозаторы пипеточные, одно- и многоканальные, «Лайт» по ТУ 9443-007-33189998-2007, АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия, РУ № ФСР 2007/01095 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.13. Холодильник, поддерживающий температурный режим от 2 до 8 °С (например, холодильник комбинированный лабораторный ХЛ-250 «POZIS» по ТУ 9452-203-07503307-2012, АО «ПОЗиС», Россия, РУ № РЗН 2016/4043 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.14. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09 (например, перчатки ARCHDALE нитриловые диагностические (смотровые) нестерильные неопудренные, текстурированные с полимерным покрытием TurboMAX, «Инновейтив Гловс Ко., Лтд.», Таиланд, РУ № РЗН 2017/6199 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.15. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов (например, контейнеры для сбора острого инструментария и органических отходов класса Б, В одноразовые МП-01, МП-02 по ТУ 9398-002-84354588-2009, ООО «МедПак», Россия, РУ № ФСР 2009/06509 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.3.16. Автоматическая станция для экстракции НК, зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:

- возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция НК из исследуемого материала» (п. 8.1.3. и 8.1.4.);
- наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнетизированной силики;
- наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;
- наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием.

В ходе проведения испытаний валидацию прошла следующая автоматическая станция для экстракции нуклеиновых кислот: станция дозирующая автоматическая Microlab STARlet с принадлежностями («Гамильтон Бонадуц АГ», Швейцария, РУ № РЗН 2018/6981).

6.3.17. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.3.18. 48-луночный планшет (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, Corning Incorporated (Корнинг Инкорпорейтед), США, РУ № ФСЗ 2009/05024 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4. Обратная транскрипция, амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки, свободные от ДНКаз/РНКаз (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/11892 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ), следующих видов:

- 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 – для проведения ПЦР при использовании прибора планшетного типа;

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – для проведения ПЦР при использовании прибора роторного типа.

6.4.2. Завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 - 2 мл – для приготовления реакционной смеси (например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/11892 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.3. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз/РНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл (например, наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем, «Эксиджен, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2012/12077 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.4. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми пробирками для ПЦР) (в соответствии с используемыми пробирками для ПЦР) (например, штатив для загрузки 0,1 мл пробирок, «КИАГЕН ГмбХ», Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.5. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, бокс абактериальной воздушной среды для защиты оператора при работе с патогенными агентами и микроорганизмами, передающимися воздушно-капельным путем БАВп-01-«Ламинар-С.» по ТУ 9443-003-51495026-2004, ЗАО «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07111 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.6. Центрифуга-вортекс (например, встряхиватель лабораторный медицинский «ДТспин» по ТУ 32.50.50-003-96301278-2024, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24070 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.7. Автоматические дозаторы переменного объема (например, дозаторы пипеточные, одно- и многоканальные, «Лайт» по ТУ 9443-007-33189998-2007, АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия, РУ № ФСР 2007/01095 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.8. Станция автоматическая с модулем для приготовления и раскапки реакционных смесей и комплект расходных материалов к ней согласно инструкции Производителя, в случае приготовления реакционной смеси с использованием автоматической станции (например, станция дозирующая автоматическая Microlab STARlet с принадлежностями, «Гамильтон Бонадуц АГ», Швейцария, РУ № РЗН 2018/6981 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.9. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного типа, либо планшетного типа, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- наличие независимых каналов флуоресцентной детекции для флуорофоров FAM, R6G, ROX, Cy5 и Cy5.5 со следующими характеристиками:

Таблица 6

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	Длины волн, нм			
	Возбуждения		Детекции	
	Минимум	Максимум	Минимум	Максимум
FAM	450	470	510	530
R6G	515	532	545	580
ROX	565	585	605	650
Cy5	620	640	660	690
Cy5.5	660	690	705	750

- для приборов планшетного типа верхняя граница температурного диапазона не менее 99 °С;
- точность поддержания температуры $\leq \pm 0,5$ °С;
- скорость нагрева не менее 1,5 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек.

В ходе проведения испытаний валидацию прошли следующие программируемые амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени»: прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q, с принадлежностями («КИАГЕН ГмбХ», Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595), термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями, исполнения C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 («Био-Рад Лабораториес, Инк.», США, РУ № ФСЗ 2008/03399), амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010, модификация 5M1 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229), система Lergen-96 для ПЦР-диагностики в реальном времени («Бейджин Лепу Медикал Технолоджи Ко., Лтд.», Китай, РУ № РЗН 2024/24369), амплификатор нуклеиновых кислот термоциклический с детекцией в режиме реального времени серии МА («Сучжоу Молэррэй Ко., Лтд.», Китай, РУ № РЗН 2025/24998), амплификатор нуклеиновых кислот термоциклический с детекцией в режиме реального времени серии МА («Цзянсу-Кью-Эррей Ко., Лтд.», Китай, РУ № РЗН 2025/24997).

6.4.10. Холодильник, поддерживающий температурный режим от 2 до 8 °С с морозильной камерой, поддерживающей температурный режим от минус 24 до минус 16 °С (например, холодильник комбинированный лабораторный ХЛ-250 «POZIS» по ТУ 9452-203-07503307-2012, АО «ПОЗИС», Россия, РУ № РЗН 2016/4043 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.11. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09 (например, перчатки ARCHDALE нитриловые диагностические (смотровые) нестерильные неопудренные, текстурированные с полимерным покрытием TurboMAX, «Инновейтив Гловс Ко., Лтд.», Таиланд, РУ № РЗН 2017/6199 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

6.4.12. Емкость для сброса наконечников (например, контейнеры для сбора острого инструментария и органических отходов класса Б, В одноразовые МП-01, МП-02 по ТУ 9398-002-84354588-2009, ООО «МедПак», Россия, РУ № ФСР 2009/06509 или другие, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ).

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служит:

- плазма крови;
- сыворотка крови.

Может проводиться исследование как индивидуальных образцов, так и образцов в минипулах. Количество образцов плазмы крови или сыворотки крови в минипуле не должно превышать 6¹¹.

7.1. Плазма крови

Взятие крови проводится натощак или через 3 часа после приема пищи в пробирку с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитрата натрия).

ВНИМАНИЕ! Недопустимо использовать гепарин в качестве антикоагулянта.

Для тщательного перемешивания крови с антикоагулянтом необходимо несколько раз перевернуть пробирку.

Допускается хранение и транспортирование образцов цельной крови:

- при температуре от 18 до 25 °С – в течение 2 часов с момента взятия материала;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток с момента взятия материала.

ВНИМАНИЕ! Недопустимо замораживание образцов цельной крови.

Для получения плазмы крови пробирки с цельной кровью центрифугировать при 600 g в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем отобрать плазму в объеме не менее 1,0 мл с использованием отдельного для каждого образца наконечника с фильтром в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл. Плазму крови необходимо перенести в новую пробирку в течение 6 ч с момента взятия образца крови.

Допускается хранение образцов плазмы крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 5 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 3 месяцев;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

¹¹ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 28 октября 2020 г. N 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов».

7.2. Сыворотка крови

Взятие крови произвести в пробирку с активатором свертывания крови или с активатором свертывания крови и гелем. Для тщательного перемешивания крови с активатором свертывания необходимо несколько раз перевернуть пробирку. Для получения сыворотки крови пробирки необходимо центрифугировать не позднее чем через 2 ч после взятия крови, при 800 – 1600 g в течение 10 мин при комнатной температуре.

При использовании пробирок без активатора свертывания крови или без активатора свертывания крови и геля для получения сыворотки пробирки с цельной кровью отстоять в течение 30 мин при комнатной температуре до полного образования сгустка или поместить на 15 мин в термостат при 37 °С, после чего центрифугировать при 800 – 1600 g в течение 10 мин при комнатной температуре.

Далее аликвоту сыворотки крови в объеме не менее 1,0 мл перенести в пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл, используя наконечник с фильтром.

ВНИМАНИЕ! Недопустимо использование гемолизированной сыворотки крови.

Допускается хранение образцов сыворотки крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 5 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 3 месяцев;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинко-диагностической лаборатории¹²:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность 40 – 75 %.

8.1. Экстракция НК из исследуемого материала

Для экстракции НК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в разделе «Дополнительное оборудование и материалы». Порядок работы с наборами для экстракции НК смотрите в инструкции по их применению.

8.1.1. При использовании модели 1, 2, 3

Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой отрицательного контроля экстракции (ОКО) и положительного контрольного образца (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2) в одном повторе.

Перед экстракцией необходимо разморозить контрольные образцы: ВКО В, ОКО, ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2.

ВНИМАНИЕ! Размораживать следует только необходимое количество пробирок с реагентами. Для одной постановки ОТ-ПЦР требуется разморозка не более одной пробирки с ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2.

¹² Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

В процессе экстракции НК использовать объемы реагентов и исследуемых образцов согласно таблице 8.

ВНИМАНИЕ! Реагент ВКО В вносится в каждую пробирку с исследуемыми и контрольными образцами (включая положительные и отрицательный контроли).

ВНИМАНИЕ! Для экстракции НК из исследуемых образцов объемом 100, 200 или 1000 мкл использовать наборы/комплекты реагентов, указанные в таблице 7 или другие рекомендуемые наборы (см. п. 6.2.).

Таблица 7

Рекомендуемые наборы для экстракции НК

Объем экстракции	Набор для экстракции
100 мкл	«АмплиПрайм РИБО-преп»
200 мкл	«МагноПрайм® Ультра» (форма выпуска 1), «МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 1, 4)
1000 мкл	«МагноПрайм® Ультра» (форма выпуска 2), «МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 2)
1000 мкл с разделением на две аликвоты по 500 мкл	«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 3, 5)

Таблица 8

Объемы реагентов и исследуемых образцов при использовании моделей 1, 2, 3

Реагент / образец	Объем	Добавлять
При экстракции из 100 мкл образца		
Исследуемый образец	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	10 мкл + 90 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	50 ¹³ мкл	в каждую пробирку
При экстракции из 200 мкл образца		
Исследуемый образец	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	200 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	10 мкл + 190 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку
При экстракции из 1000 мкл образца		
Исследуемый образец	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	1000 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	10 мкл + 990 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку

¹³ При необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл.

Реагент / образец	Объем	Добавлять
При экстракции из 1000 мкл образца с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл		
Исследуемый образец	1000 мкл с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	1000 мкл с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	10 мкл ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 + 490 мкл ОКО (в пробирку №1), 500 мкл ОКО (в пробирку №2)	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку

8.1.2. При использовании модели 4

Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой отрицательного контроля экстракции (ОКО) и положительного контрольного образца (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo) в одном повторе.

ВНИМАНИЕ! Реагенты ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo и ВКО В Lyo требуют восстановления.

Для восстановления лиофилизированных реагентов необходимо в пробирку с лиофилизатом добавить **Разбавитель** в объеме, указанном в таблице 9, перемешать содержимое пробирок с восстановленными реагентами на вортексе, осадить капли кратким центрифугированием.

Таблица 9

Объем Разбавителя для восстановления реагентов

Реагент	Разбавитель, мкл
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo	70
ВКО В Lyo	600

В процессе экстракции НК использовать объемы реагентов и исследуемых образцов согласно таблице 11.

ВНИМАНИЕ! Реагент ВКО В Lyo вносится в каждую пробирку с исследуемыми и контрольными образцами (включая положительные и отрицательный контроли).

ВНИМАНИЕ! Для экстракции НК из исследуемых образцов объемом 100, 200 или 1000 мкл использовать наборы/комплекты реагентов, указанные в таблице 10 или другие рекомендуемые наборы (см. п.6.2.).

Таблица 10

Рекомендуемые наборы для экстракции НК

Объем экстракции	Набор для экстракции
100 мкл	«АмплиПрайм РИБО-преп»
200 мкл	«МагноПрайм® Ультра» (форма выпуска 1), «МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 1, 4)
1000 мкл	«МагноПрайм® Ультра» (форма выпуска 2), «МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 2)
1000 мкл с разделением на две аликвоты по 500 мкл	«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ» (форма выпуска 3, 5)

Объемы реагентов и исследуемых образцов при использовании модели 4

Реагент / образец	Объем	Добавлять
При экстракции из 100 мкл образца		
Исследуемый образец	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В Lyo (восстановленный)	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo (восстановленный)	10 мкл + 90 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	50 ¹⁴ мкл	в каждую пробирку
При экстракции из 200 мкл образца		
Исследуемый образец	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В Lyo (восстановленный)	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	200 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo (восстановленный)	10 мкл + 190 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку
При экстракции из 1000 мкл образца		
Исследуемый образец	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В Lyo (восстановленный)	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	1000 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo (восстановленный)	10 мкл + 990 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку
При экстракции из 1000 мкл образца с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл		
Исследуемый образец	1000 мкл с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ВКО В Lyo (восстановленный)	10 мкл	в каждую пробирку
ОКО	1000 мкл с разделением объема на 2 пробирки по 500 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo (восстановленный)	10 мкл ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo + 490 мкл ОКО (в пробирку №1), 500 мкл ОКО (в пробирку №2)	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку

8.1.3. При использовании модели 5

ВНИМАНИЕ! При использовании комплекта для экстракции, входящего в модель 5, экстракция НК производится из 1000 мкл биологического образца.

Перед экстракцией необходимо разморозить контрольные образцы: ВКО В, ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2.

В процессе экстракции НК использовать объемы реагентов и исследуемых образцов согласно таблице 12.

¹⁴ При необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл.

Объемы реагентов и исследуемых образцов при использовании модели 5

Реагент / образец	Объем	Добавлять
Исследуемый образец	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	1000 мкл	в пробирку для ОКО
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	10 мкл + 990 мкл ОКО	в пробирку для ПКО
Реагент, используемый для элюции НК	100 мкл	в каждую пробирку

8.1.3.1. Автоматическая методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и убедиться, что программа содержит необходимую последовательность действий.

8.1.3.1.1 Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

1) Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

2) **Буфер U1** и **Буфер U2** (если они хранились при температуре от 2 до 8 °C) прогреть при температуре 65 °C до полного растворения кристаллов.

3) Перемешать **Буфер U1**, **Буфер U2**, **Буфер U3**, **Буфер U5** и **Буфер E1**, не допуская образования пены. Перемешать **Реагент U**, **ВКО В**, **ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2**, **ОКО** на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

4) Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.1.3.1.2 Процедура экстракции НК с использованием автоматической станции для экстракции НК

1) Внести в ванночки для реагентов требуемые объемы **Буфера U1**, **Буфера U2**, **Буфера U3**, **Буфера U5** и расставить их на борту станции согласно схеме протокола.

2) Расставить пробирки с **Реагентом U**, **МГС** и **ВКО В** с открытыми крышками согласно схеме протокола.

Допускается внесение готовой смеси **Буфера U1**, **Реагента U**, **МГС** и **ВКО В** в картридж из расчета **1300 мкл Буфера U1**, **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО В** на один образец.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из **ВКО В**, **МГС**, **Реагента U** и **Буфера U1**, хранению не подлежит.

3) Установить требуемое количество наконечников и 48-луночный планшет для выделения НК.

ВНИМАНИЕ! Планшет не входит в состав комплекта для экстракции из набора реагентов «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2», модель 5.

4) Установить на станцию пробирки с контрольными и тестируемыми образцами с открытыми крышками.

5) Запустить выполнение протокола экстракции.

6) Элюат содержит очищенные ДНК / РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия планшета с магнитного штатива.

8.1.3.2. Ручная методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

8.1.3.2.1 Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

- 1) Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
- 2) **Буфер U1** и **Буфер U2** (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
- 3) Перемешать **Буфер U1**, **Буфер U2**, **Буфер U3**, **Буфер U5** и **Буфер E1**, не допуская образования пены. Перемешать Реагент U, ВКО В, ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2, ОКО на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.
- 4) Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
- 5) Приготовить в отдельной пробирке смесь **Реагента U**, **МГС** и **ВКО В**, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО В**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС и Реагента U, хранению не подлежит.

8.1.3.2.2 Процедура экстракции НК

- 1) Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных образцов:
 - а) по **80 мкл** подготовленной смеси **ВКО В**, **Реагента U**, **МГС** и по **1300 мкл Буфера U1**
 - или
 - б) по **1380 мкл** подготовленной смеси **Реагента U**, **МГС**, **ВКО В** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС, Реагента U и Буфера U1, хранению не подлежит.

- 2) Внести в пробирки **исследуемые и контрольные образцы** в объеме **1000 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.
- 3) Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.
- 4) Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
- 5) Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надсадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.
- 6) Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотнo закрыть крышки.
- 7) Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать.

- 8) Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.
- 9) Поместить пробирки с открытыми крышками в магнитный штатив на **2 мин.**
- 10) Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 5.
- 11) Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотнo закрыть крышки.
- 12) Перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.
- 13) Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на 2 мин.
- 14) Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 5.
- 15) Не убирая пробирки с магнитного штатива, внести по **1000 мкл Буфера U5**. Содержимое пробирок не перемешивать. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 5.
- 16) Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1**. Плотнo закрыть крышки.
- 17) Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 18) Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **10 мин**, перемешивая каждые 2 мин.
- 19) Осадить капли кратким центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.
- 20) Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК / РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.1.4. При использовании модели 6

ВНИМАНИЕ! При использовании комплекта для экстракции, входящего в модель 6, экстракция НК производится из 1000 мкл биологического образца.

Перед экстракцией необходимо разморозить контрольные образцы: ВКО В, ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2.

8.1.4.1. Автоматическая методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и убедиться, что программа содержит необходимую последовательность действий.

8.1.4.1.1 Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

- 1) В пробирку с **Разбавителем для ПКО** внести **50 мкл ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2**. Тщательно перемешать на вортексе, сбросить капли со стенок кратким центрифугированием. Разведенный ПКО хранится при температуре от 2 до 8 °C в течение 6 месяцев.
- 2) **Буфер U1** и **Буфер U2** (если они хранились при температуре от 2 до 8 °C) прогреть при температуре 65 °C до полного растворения кристаллов.
- 3) Перемешать **Буфер U1**, **Буфер U2**, **Буфер U3**, **Буфер U5** и **Буфер E1**, не допуская образования пены. Перемешать **Реагент U**, **ВКО В**, разбавленный **ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2**, **ОКО** на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

4) Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.1.4.1.2 Процедура экстракции НК с использованием автоматической станции для экстракции НК

1) Внести в ванночки для реагентов требуемые объемы **Буфера U1, Буфера U2, Буфера U3, Буфера U5** и расставить их на борту станции согласно схеме протокола.

2) Расставить пробирки с **Реагентом U, МГС** и **ВКО В** с открытыми крышками согласно схеме протокола.

Допускается внесение готовой смеси Буфера U1, Реагента U, МГС и ВКО В в картридж из расчета **1300 мкл Буфера U1, 40 мкл Реагента U, 30 мкл МГС и 10 мкл ВКО В** на один образец.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС, Реагента U и Буфера U1, хранению не подлежит.

3) Установить требуемое количество наконечников и 48-луночный планшет для выделения НК.

ВНИМАНИЕ! Планшет не входит в состав комплекта для экстракции из набора реагентов «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2», модель 6.

4) Установить на станцию пробирки с тестируемыми образцами с открытыми крышками.

5) Установить на станцию пробирки с открытыми крышками с контрольными образцами (разведенный ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 и ОКО), входящими в состав набора реагентов.

6) Запустить выполнение протокола экстракции.

7) Элюат содержит очищенные ДНК / РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия планшета с магнитного штатива.

8.1.4.2. Ручная методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

8.1.4.2.1 Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

1) Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

2) **Буфер U1** и **Буфер U2** (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

3) Перемешать **Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U5** и **Буфер E1**, не допуская образования пены. Перемешать **Реагент U, ВКО В, ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2, ОКО** на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

4) Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

5) Приготовить в отдельной пробирке смесь Реагента U, МГС и ВКО В, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U, 30 мкл МГС и 10 мкл ВКО В**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС и Реагента U, хранению не подлежит.

8.1.4.2.2 Процедура экстракции НК

1) Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **80 мкл** подготовленной смеси ВКО В, Реагента U, МГС и по **1300 мкл Буфера U1**

или

б) по **1380 мкл** подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО В и Буфера U1.

ВНИМАНИЕ! Смесь, приготовленная из ВКО, МГС, Реагента U и Буфера U1, хранению не подлежит.

2) В пробирку с **Разбавителем для ПКО** внести **50 мкл ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2**. Тщательно перемешать, сбросить капли со стенок. Разведенный ПКО хранится при температуре от 2 до 8 °C в течение 6 месяцев.

3) Внести в пробирки **исследуемые и контрольные образцы (разведенный ПКО, ОКО)** в объеме **1000 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

4) Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °C** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

5) Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

6) Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надсадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.

7) Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотнo закрыть крышки.

8) Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать.

9) Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.

10) Поместить пробирки с открытыми крышками в магнитный штатив на **2 мин**.

11) Отобрать надсадочную жидкость аналогично п. 6.

12) Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотнo закрыть крышки.

13) Перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

14) Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

15) Отобрать надсадочную жидкость аналогично п. 6.

16) Не убирая пробирки с магнитного штатива, внести по **1000 мкл Буфера U5**. Содержимое пробирок не перемешивать. Отобрать надсадочную жидкость аналогично п. 6.

17) Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1**. Плотнo закрыть крышки.

- 18) Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 19) Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
- 20) Осадить капли кратким центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
- 21) Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК / РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.2. Подготовка реагентов для ОТ-ПЦР

8.2.1. При использовании моделей 1 и 6

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

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Реагента TG, Taq полимеразы и Реввертазы А при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! В случае приготовления реакционной смеси с помощью автоматической станции следуйте указаниям инструкции по ее использованию.

8.2.1.1. Рассчитать объемы реагентов, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 13). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 13

Расчет объемов компонентов для одной реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2	15*(N+1)	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
Буфер С	10*(N+1)	
Реагент TG	0,5*(N+1)	
Taq полимеразы	2*(N+1)	
Реввертаза А	0,5*(N+1)	

8.2.1.2. Разморозить реагенты. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с реагентами на вортексе, осадить капли кратким центрифугированием.

8.2.1.3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.1.1. Перемешать смесь и осадить капли кратким центрифугированием.

8.2.1.4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов для проведения ОТ-ПЦР НК исследуемых и контрольных образцов. Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

8.2.1.5. Внести в пробирки по **25 мкл** приготовленной **реакционной смеси**.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.2. При использовании моделей 2, 3 и 5

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

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Реагента TG, Taq полимеразы и Реввертазы А при комнатной температуре.

8.2.2.1. Рассчитать объемы реагентов, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 14). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 14

Расчет объемов компонентов для одной реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
Буфер С	$10 \cdot (N+1)$	N – количество амплифицируемых образцов, включая контроли
Реагент TG	$0,5 \cdot (N+1)$	
Taq полимеразы	$2 \cdot (N+1)$	
Реввертаза А	$0,5 \cdot (N+1)$	

8.2.2.2. Разморозить реагенты. Перед смешиванием реагентов перемешать содержимое пробирок с реагентами на вортексе, осадить капли кратким центрифугированием.

8.2.2.3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.2.1. Перемешать смесь на вортексе и осадить капли кратким центрифугированием.

8.2.2.4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов с **ПЦР-смесью HBV/НСV/HIV1/HIV2** для проведения ОТ-ПЦР НК исследуемых и контрольных образцов.

8.2.2.5. Убедиться, что парафин полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.

8.2.2.6. На поверхность парафина внести по **10 мкл** приготовленной **реакционной смеси**, при этом она не должна проваливаться под прослойку парафина и смешиваться с ПЦР-смесью.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.3. При использовании модели 4

8.2.3.1. Отобрать необходимое количество стрипованных пробирок с ПЦР-смесью HBV/НСV/HIV1/HIV2 Lyo для проведения ОТ-ПЦР НК исследуемых и контрольных образцов.

8.3. Внесение проб НК, проведение ОТ-ПЦР и детекции

ВНИМАНИЕ! При добавлении проб НК, экстрагированных с помощью наборов или комплектов реагентов для проведения экстракции методом сорбции на силикагеле или магнитной сепарации, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе программирование и запуск амплификатора проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору. При использовании программного обеспечения FRT Manager программирование амплификатора устанавливается автоматически.

8.3.1. Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью/лиофилизатом пробы НК, полученные в результате экстракции из тестируемых и контрольных образцов, и отрицательный контроль ОТ-ПЦР – реагент **К-** или **Разбавитель** в соответствии с таблицей 15.

Образцы и их объемы для проведения амплификации

Объем тестируемого образца, мкл	Контрольный образец	Объем контрольного образца, мкл
При использовании модели 1, 6		
25	ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	25
	ОКО	
	К-	
При использовании модели 2, 3, 5		
20	ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	20
	ОКО	
	К-	
При использовании модели 4		
50	ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo	50
	ОКО	
	Разбавитель	

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после внесения НК-проб и контролей в реакционные смеси.

8.3.2. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. таблицу 16).

Таблица 16

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
Для приборов планшетного типа				
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	5
	64	20 с	—	
	72	15 с	—	
4	95	10 с	—	45
	60	20 с	FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5	
	72	15 с	—	
Для приборов роторного типа				
1	50	15 мин	—	1
2	95	15 мин	—	1
3	95	10 с	—	5
	64	20 с	—	
	72	15 с	—	
4	95	10 с	—	45
	60	25 с	FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5	
	72	20 с	—	

8.3.3. Перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием.

8.3.4. Установить пробирки или стрипы в ячейки реакционного модуля прибора.

8.3.5. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

8.3.6. Прибор проводит регистрацию флуоресцентного сигнала автоматически в режиме «реального времени».

8.4. Анализ и вычисление результатов

Анализ и обработку результатов можно проводить:

– в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИЛС», Россия, РУ № РЗН 2019/8870), выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору.;

– в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

ВНИМАНИЕ! При ручном анализе обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Обработка и расчет результатов происходит 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 кДНК или ДНК значения порогового цикла (Ct) в соответствующей графе таблицы результатов. Параметры обработки флуоресцентных кривых зависят от используемой модели амплификатора (см. вкладыш к набору и инструкцию по применению амплификатора).

Кривые накопления флуоресцентного сигнала анализируются по пяти каналам детекции (см. таблицы 17).

Таблица 17

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5
Продукт амплификации	ВКО	РНК HIV-1	РНК HCV	ДНК HBV	РНК HIV-2

8.5. Интерпретация результатов

Интерпретацию результатов проводят в двух вариантах:

– вручную в соответствии с таблицей 18 и вкладышем, прилагаемым к набору. Результат исследования считают достоверным, если результаты, полученные для контрольных образцов, соответствуют критериям валидности, указанным в таблице 19;

– в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИЛС», Россия, РУ № РЗН 2019/8870), выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Используемые в программном обеспечении алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов и критерии валидности результатов, полученных для контролей, представлен в таблицах 18 и 19 соответственно.

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Значение Ct по каналу для флуорофора FAM не определено или определено выше граничного ¹⁵ , а по каналам R6G, ROX, Cy5 и Cy5.5 определено или отсутствует	Невалидный! Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Значение Ct по каналам для флуорофоров R6G, ROX, Cy5 и Cy5.5 не определено, а по каналу для флуорофора FAM определено не выше граничного	РНК HIV-1, РНК HCV, ДНК HBV, РНК HIV-2 не обнаружены
Значение Ct по каналам для флуорофоров R6G и/или ROX, и/или Cy5, и/или Cy5.5 определено не выше граничного. При этом значение Ct по каналу FAM определено не выше граничного. Кривые флуоресценции данной пробы по данным каналам пересекают пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.	РНК HIV-1 и/или РНК HCV, и/или ДНК HBV, и/или РНК HIV-2 обнаружены

Таблица 19

Критерии валидности для контрольных образцов

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора	
	FAM	R6G, ROX, Cy5, Cy5.5
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Определено значение Ct не выше граничного ¹⁵	Значение Ct отсутствует
К- (отрицательный контроль ОТ-ПЦР)	Значение Ct отсутствует	
ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2	Определено значение Ct не выше граничного	

8.6. Возможные ошибки и рекомендации по их решению

8.6.1. Для отрицательного контроля экстракции (ОКО) по каналу для флуорофора R6G, ROX, Cy5 и/или Cy5.5 определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов или исследуемых образцов на каком-либо этапе исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех образцов, в которых обнаружена РНК или ДНК выявляемых вирусов, начиная с этапа экстракции НК.

8.6.2. Для отрицательного контроля ОТ-ПЦР (К-) по каналу для флуорофора FAM и/или R6G, ROX, Cy5, Cy5.5 определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех образцов, в которых обнаружена РНК или ДНК выявляемых вирусов, начиная с этапа амплификации.

8.6.3. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

8.6.4. В случае получения невалидных результатов требуется повторное исследование образца, начиная с этапа экстракции НК. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторно провести взятие, предварительную подготовку и исследование образца.

¹⁵ Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8.7. Диагностическое значение полученного результата

ПЦР-исследование является одним из методов всестороннего обследования пациента, на основании которых лечащий врач устанавливает диагноз и выбирает мероприятия по лечению пациента. Результаты, полученные при использовании набора, следует рассматривать и интерпретировать в сочетании с данными других клинических и лабораторных исследований.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Предел обнаружения¹⁶

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью (см. таблицу 20).

Значения характеристики, указанные в таблице 20, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 20

Предел обнаружения набора

Комплект / Набор для экстракции	Вирус	Предел обнаружения по Probit 95%	95%-ый доверительный интервал
Плазма крови			
«АмплиПрайм РИБО-преп»	HIV-1	200 копий/мл	193,0 копий/мл – 215,0 копий/мл
	HCV	100 МЕ/мл	95,6 МЕ/мл – 107,0 МЕ/мл
	HBV	50 МЕ/мл	48,2 МЕ/мл – 51,7 МЕ/мл
	HIV-2	500 копий/мл	487,0 копий/мл – 525,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра», форма выпуска 1	HIV-1	100 копий/мл	97,2 копий/мл – 108,0 копий/мл
	HCV	50 МЕ/мл	49,1 МЕ/мл – 50,7 МЕ/мл
	HBV	25 МЕ/мл	24,5 МЕ/мл – 26,4 МЕ/мл
	HIV-2	250 копий/мл	241,0 копий/мл – 262,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра», форма выпуска 2	HIV-1	20 копий/мл	19,1 копий/мл – 21,4 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,93 МЕ/мл – 10,7 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,84 МЕ/мл – 5,23 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	49,1 копий/мл – 50,9 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ», форма выпуска 1	HIV-1	100 копий/мл	96,3 копий/мл – 107,0 копий/мл
	HCV	50 МЕ/мл	49,4 МЕ/мл – 51,0 МЕ/мл
	HBV	25 МЕ/мл	24,0 МЕ/мл – 25,8 МЕ/мл
	HIV-2	250 копий/мл	241,0 копий/мл – 259,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ», форма выпуска 2	HIV-1	20 копий/мл	19,0 копий/мл – 21,2 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,64 МЕ/мл – 10,3 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,87 МЕ/мл – 5,26 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	49,3 копий/мл – 50,9 копий/мл
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» (модель 5, комплект для экстракции)	HIV-1	20 копий/мл	17,9 копий/мл – 21,8 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,42 МЕ/мл – 11,2 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,58 МЕ/мл – 5,31 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	48,1 копий/мл – 51,7 копий/мл
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» (модель 6, комплект для экстракции)	HIV-1	20 копий/мл	18,0 копий/мл – 21,6 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,59 МЕ/мл – 11,3 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,64 МЕ/мл – 5,39 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	48,4 копий/мл – 51,4 копий/мл

¹⁶ Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация РНК, ДНК выявляемого возбудителя, при которой 95% тестов дают положительный результат).

Комплект / Набор для экстракции	Вирус	Предел обнаружения по Probit 95%	95%-ый доверительный интервал
Сыворотка крови			
«АмплиПрайм РИБО-преп»	HIV-1	200 копий/мл	196,0 копий/мл – 217,0 копий/мл
	HCV	100 МЕ/мл	95,7 МЕ/мл – 106,0 МЕ/мл
	HBV	50 МЕ/мл	48,5 МЕ/мл – 52,6 МЕ/мл
	HIV-2	500 копий/мл	486,0 копий/мл – 522,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра», форма выпуска 1	HIV-1	100 копий/мл	100,0 копий/мл – 111,0 копий/мл
	HCV	50 МЕ/мл	49,0 МЕ/мл – 50,5 МЕ/мл
	HBV	25 МЕ/мл	24,0 МЕ/мл – 25,9 МЕ/мл
	HIV-2	250 копий/мл	241,0 копий/мл – 260,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра», форма выпуска 2	HIV-1	20 копий/мл	19,5 копий/мл – 21,5 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,61 МЕ/мл – 10,3 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,89 МЕ/мл – 5,27 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	49,2 копий/мл – 50,7 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ», форма выпуска 1	HIV-1	100 копий/мл	94,8 копий/мл – 104,0 копий/мл
	HCV	50 МЕ/мл	49,6 МЕ/мл – 51,2 МЕ/мл
	HBV	25 МЕ/мл	24,1 МЕ/мл – 26,0 МЕ/мл
	HIV-2	250 копий/мл	245,0 копий/мл – 264,0 копий/мл
«МагноПрайм® Ультра-ФАСТ», форма выпуска 2	HIV-1	20 копий/мл	18,8 копий/мл – 20,9 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,94 МЕ/мл – 10,7 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,77 МЕ/мл – 5,12 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	49,1 копий/мл – 50,7 копий/мл
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» (модель 5, комплект для экстракции)	HIV-1	20 копий/мл	18,6 копий/мл – 23,4 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,3 МЕ/мл – 11,0 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,54 МЕ/мл – 5,32 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	48,8 копий/мл – 52,3 копий/мл
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» (модель 6, комплект для экстракции)	HIV-1	20 копий/мл	18,5 копий/мл – 22,8 копий/мл
	HCV	10 МЕ/мл	9,33 МЕ/мл – 10,8 МЕ/мл
	HBV	5 МЕ/мл	4,64 МЕ/мл – 5,39 МЕ/мл
	HIV-2	50 копий/мл	48,4 копий/мл – 51,4 копий/мл

9.2. Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает только РНК HIV-1, РНК HIV-2, РНК HCV и ДНК HBV.

Аналитическая специфичность набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» оценивалась тестированием НК микроорганизмов и вирусов, приведенных в таблице 21, в концентрации не менее 1×10^6 копий/мл и геномной ДНК человека в концентрации 5×10^6 кл/мл, тестированием различных генотипов HCV (HCV 1a, HCV 1b, HCV 2i, HCV 3a, HCV 4r, HCV 5a и HCV 6a), различных субтипов HIV-1 (в том числе принадлежащие к группе М (субтипы А, В, С, D, F, G, H, J, K и их циркулирующие рекомбинантные формы (CRF03-AB, CRF02-AG, CRF01-AE)), группе N и группе O), ДНК HBV, РНК HIV-2.

Таблица 21

Микроорганизмы и вирусы, используемые для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы и вирусы	
<i>Epstein-Barr virus (EBV)</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Cytomegalovirus (CMV)</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Human herpesvirus 6 (HHV6)</i>	<i>Herpes simplex virus I (HSV I)</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Herpes simplex virus II (HSV II)</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Hepatitis delta virus (HDV)</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Varicella Zoster virus (VZV)</i>

При тестировании образцов ДНК и РНК вышеперечисленных микроорганизмов, вирусов и геномной ДНК человека с использованием набора перекрестных реакций выявлено не было.

9.3. Воспроизводимость и повторяемость измерения

Воспроизводимость и повторяемость результатов с использованием набора реагентов оценивали путем тестирования модельных образцов. Модельные образцы были приготовлены путем контаминации образцов плазмы крови и сыворотки крови стандартным образцом предприятия, содержащим искусственно-синтезированную ДНК HBV, РНК HCV, РНК HIV-1, РНК HIV-2. Каждый образец проходил все этапы исследования (экстракцию НК, ОТ-ПЦР и детекцию результатов).

При оценке повторяемости коэффициент вариации, рассчитанный по результатам определения пороговых циклов (Ct), не превышал 5%.

При оценке воспроизводимости коэффициент вариации, рассчитанный по результатам определения пороговых циклов (Ct), не превышал 10%.

9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность

Для определения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» были использованы образцы каждого вида биоматериала, предусмотренного назначением набора реагентов, в количестве, указанном в таблице 22.

В качестве наборов сравнения использовались наборы реагентов для выявления и количественного определения ДНК HBV, РНК HCV, РНК HIV-1, РНК HIV-2, зарегистрированные в Российской Федерации в установленном порядке.

Таблица 22

Результаты тестирования образцов биологического материала с помощью набора реагентов «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2»

Исследуемые образцы			Результаты тестирования						
Вирус	Всего образцов	Образцы	Тестируемый набор «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2»						Наборы сравнения
			Модель 1	Модель 2	Модель 3	Модель 4	Модель 5	Модель 6	
Плазма крови									
HBV	805	Положительные	120	120	120	120	120	120	120
		Отрицательные	685	685	685	685	685	685	685
HCV		Положительные	171	171	171	171	171	171	171
		Отрицательные	634	634	634	634	634	634	634
HIV-1		Положительные	141	141	141	141	141	141	141
		Отрицательные	664	664	664	664	664	664	664
HIV-2		Положительные	30	30	30	30	30	30	30
		Отрицательные	775	775	775	775	775	775	775
Сыворотка крови									
HBV	730	Положительные	106	106	106	106	106	106	106
		Отрицательные	624	624	624	624	624	624	624
HCV		Положительные	162	162	162	162	162	162	162
		Отрицательные	568	568	568	568	568	568	568
HIV-1		Положительные	121	121	121	121	121	121	121
		Отрицательные	609	609	609	609	609	609	609
HIV-2		Положительные	30	30	30	30	30	30	30
		Отрицательные	700	700	700	700	700	700	700

Значения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные, исходя из полученных данных, приведены в таблице 23.

Таблица 23

**Диагностические характеристики набора реагентов
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2»**

Биоматериал	Вирус	Диагностическая специфичность, %	Диагностическая чувствительность, %
Плазма крови	HBV	100% (99,46% – 100%)	100% (96,97% – 100%)
	HCV	100% (99,42% – 100%)	100% (97,87% – 100%)
	HIV-1	100% (99,45% – 100%)	100% (97,42% – 100%)
	HIV-2	100% (99,53% – 100%)	100% (88,43% – 100%)
Сыворотка крови	HBV	100% (99,41% – 100%)	100% (96,58% – 100%)
	HCV	100% (99,35% – 100%)	100% (97,75% – 100%)
	HIV-1	100% (99,40% – 100%)	100% (97,00% – 100%)
	HIV-2	100% (99,47% – 100%)	100% (88,43% – 100%)

9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность ОТ-ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» отсутствует. Не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала на этапе экстракции интерферирующих веществ, представленных в таблице 24, в максимально возможной концентрации.

Таблица 24

**Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора
«АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2»**

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Плазма крови, сыворотка крови	гемоглобин	200 мг/мл
	иммуноглобулин G	16 мг/мл
	лактоферрин	1 мкг/мл
	билирубин	0,2 мг/мл
	триглицериды	5 мг/мл
	альбумин	50 мг/мл

Также не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам биоматериала ДНК человека в концентрации $1,0 \times 10^8$ копий/мл.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

Срок годности всех моделей составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать согласно срокам, указанным в п. 10.3. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10.2. Транспортирование

Модель 1, 2, 3, 5, 6:

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах не более 5 суток. Набор реагентов при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

При более длительной транспортировке необходимо разукomплектовать набор. Реагенты транспортировать согласно температуре хранения.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

Модель 4:

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 месяцев всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 10 суток.

Не допускается замораживание реагентов набора.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

10.3. Хранение

10.3.1. Модель 1

Набор хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

Контрольные образцы (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2, ВКО В и ОКО) после вскрытия пробирок хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев. Не допускается повторная заморозка контрольных образцов. Остальные реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Необходимо минимизировать время нахождения Реагента TG, Taq полимеразы и Ревертазы А при комнатной температуре.

Реакционная смесь, приготовленная из реагентов, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10.3.2. Модели 2 и 3

Набор необходимо разукomплектовать. ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2 хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора. Остальные реагенты из набора хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С.

Контрольные образцы (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2, ВКО В и ОКО) после вскрытия пробирок хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев. Не допускается повторная заморозка контрольных образцов.

Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Необходимо минимизировать время нахождения Реагента TG, Taq полимераза и Ревертазы А при комнатной температуре.

Реакционная смесь, приготовленная из реагентов, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10.3.3. Модель 4

Набор беречь от влаги. Хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора. ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo хранить в пакете с силикагелем.

Восстановленные контрольные образцы (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo, ВКО В Lyo) хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3 месяцев.

Упаковку с лиофилизированными реагентами (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 Lyo, ВКО В Lyo) необходимо вскрывать непосредственно перед их восстановлением.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты (за исключением восстановленных) стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Не допускается замораживание реагентов набора.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10.3.4. Модель 5

Набор необходимо разукomплектовать.

Комплект для ОТ-ПЦР:

Комплект для ОТ-ПЦР необходимо разукomплектовать. ПЦР-смесь HBV/HCV/HIV1/HIV2 хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора. Остальные реагенты из набора хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С.

Контрольные образцы (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 и ВКО В) после вскрытия пробирок хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев. Не допускается повторная заморозка контрольных образцов. Необходимо минимизировать время нахождения Реагента TG, Taq полимераза и Ревертазы А при комнатной температуре.

Реакционная смесь, приготовленная из реагентов, хранению не подлежит.

Комплект для экстракции:

Комплект для экстракции необходимо разукomплектовать. Реагент U хранить при температуре от 2 до 8 °С. Остальные реагенты хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора.

Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС, Реагента U и Буфера U1, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10.3.5. Модель 6

Набор необходимо разукрупнить.

Комплект для ОТ-ПЦР:

Комплект для ОТ-ПЦР хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

Контрольные образцы (ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 и ВКО В) после вскрытия пробирок хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев. Не допускается повторная заморозка контрольных образцов. **ПКО HBV/HCV/HIV1/HIV2 после разведения хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев.** Остальные реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Необходимо минимизировать время нахождения Реагента ТГ, Таq полимеразы и Реввертазы А при комнатной температуре.

Реакционная смесь, приготовленная из реагентов, хранению не подлежит.

Комплект для экстракции:

Комплект для экстракции необходимо разукрупнить. Реагент U хранить при температуре от 2 до 8 °С. Остальные реагенты хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора.

Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты ОКО и Разбавитель для ПКО после вскрытия пробирок хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев. Остальные реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

Смесь, приготовленная из ВКО В, МГС, Реагента U и Буфера U1, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество набора «АмплиПрайм® HBV/HCV/HIV1/HIV2» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394, г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: nextbio.ru.

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Изготовитель



Номер партии



Дата изготовления



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Использовать до



Содержимого достаточно для проведения <n> тестов



Температурный диапазон



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



Не допускать воздействия солнечного света



Осторожно



Не допускать воздействия влаги



Знаки опасности