



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного
определения ДНК вируса гепатита Б (HBV)
методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)

ГЕПАТОГЕН-Б количественный

Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2008/03506 от 24 мая 2010 года

Каталожные номера:
Q2-P602-23/9 (пробирки)
Q2-P602-S3/9 (стрипы)

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	НАЗНАЧЕНИЕ	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА	4
2.1	Принцип действия.....	4
2.2	Количество тестов.....	5
2.3	Состав набора.....	5
2.4	Время проведения анализа.....	6
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	6
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	7
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	9
6.1	Взятие образцов периферической крови.....	9
6.2	Транспортировка и хранение исследуемого материала.....	9
6.3	Получение плазмы.....	9
7.	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	10
7.1	Выделение РНК из плазмы крови.....	10
7.2	Подготовка и проведение полимеразной цепной реак- ции.....	12
8	СОЗДАНИЕ ТЕСТА (ПРОТОКОЛА) ДЛЯ ДЕТЕКТИРУЮЩИХ АМПЛИФИКАТОРОВ ПРИ ПЕРВОЙ ПОСТАНОВКЕ НА ДАННОМ КОМПЬЮТЕРЕ	15
8.1	Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.....	15
8.2	Для прибора iQ.....	17
8.3	Для прибора iQ5.....	18
9	ЕЖЕДНЕВНАЯ РАБОТА С ТЕСТОМ (ПРОТОКОЛОМ)	19
9.1	Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.....	19
9.2	Для прибора iQ.....	23
9.3	Для прибора iQ5.....	26
10	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	31
10.1	Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.....	31
10.2	Для прибора iQ.....	34
10.3	Для прибора iQ5.....	36
11	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ	38
12	УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТА- ЦИИ НАБОРА	40
13	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	41
14	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	41
	ПРИЛОЖЕНИЕ	43

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного определения ДНК вируса гепатита Б (HBV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)

ГЕПАТОГЕН-Б количественный

1 НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1** Набор реагентов для количественного определения ДНК вируса гепатита Б (HBV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) ГЕПАТОГЕН-Б количественный предназначен для количественного определения ДНК вируса гепатита Б (Hepatitis B virus) в образцах плазмы крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.
- 1.2** Набор реагентов ГЕПАТОГЕН-Б количественный может быть использован в клинической практике для диагностики гепатита Б и оценки эффективности противовирусной терапии.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только при плавлении парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В реакционную смесь для проведения амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ве-

дёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

Исследование с использованием набора реагентов ГЕПАТОГЕН-Б количественный состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК HBV в режиме реального времени.

На стадии выделения ДНК в реакционную смесь добавляют внутренний контрольный образец (ДНК-ВК), предназначенный для оценки эффективности всех этапов исследования.

Для проведения количественной оценки ДНК HBV, набор реагентов ГЕПАТОГЕН-Б количественный включает калибровочные образцы в двух концентрациях: $1,0 \times 10^6$ копий/мл и $3,0 \times 10^3$ копий/мл.

Использование калибровочных образцов (СТ) позволяет построить калибровочную прямую, при помощи которой можно определить концентрацию ДНК HBV в исследуемых образцах плазмы крови.

Таблица 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
HBV	ДНК-ВК	-	-	-

2.2 Набор, включающий 96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок со смесью для амплификации, рассчитан на проведение 44 определений неизвестных образцов (в двух повторях каждый).

2.3 Состав набора

Набор состоит из следующих комплектов:

1. Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот включает:

- лизирующий раствор – 1 флакон (30 мл);
- реагент для преципитации – 1 флакон (40 мл);
- промывочный раствор №1 – 1 флакон (50 мл);

- промывочный раствор №2 – 1 флакон (30 мл);
- буфер для растворения – 4 пробирки (по 1,25 мл);
- отрицательный контрольный образец – 2 пробирки (по 1,5 мл);
- внутренний контрольный образец (ДНК-ВК) – 1 пробирка (1,0 мл).

2. Калибровочные образцы:

- HBV-СТ1 ($1,0 \times 10^6$ копий/мл) – 1 пробирка (75 мкл);
- HBV-СТ2 ($3,0 \times 10^3$ копий/мл) – 1 пробирка (75 мкл).

3. Комплект реагентов для ПЦР-амплификации включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 96 пробирок (по 20 мкл) или 12 стрипов по 8 пробирок (по 20 мкл);
- полимеразу ТехноТaq – 1 пробирка (50 мкл);
- буферный раствор «ПЦР-буфер» – 2 пробирки (по 500 мкл);
- минеральное масло – 2 пробирки (по 1,0 мл);
- положительный контрольный образец ДНК – 1 пробирка (500 мкл).

2.4 Время проведения анализа – 4 часа.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая специфичность: набор реагентов выявляет все субтипы вируса гепатита В.

В образцах, содержащих ДНК HBV, определяется концентрация вируса в исследуемом материале. В образцах, не содержащих ДНК HBV, результат исследования должен быть отрицательным.

Чувствительность анализа: не более 200 геном-эквивалентов (копий) ДНК HBV на 1,0 мл плазмы.

Линейный диапазон концентраций ДНК HBV, определяемых детектирующим амплификатором, составляет $7,5 \times 10^2$ – $1,0 \times 10^8$ копий/мл образца.

Коэффициент вариаций результатов определений – не более 7%.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности» и санитарно-эпидемиологическими правилам СП 1.3 3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

Утилизировать неиспользованные реактивы, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты и биологический материал необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Примечание - Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов ГЕПАТОГЕН-Б количественный требуются следующие оборудование и материалы:

- бокс биологической (микробиологической) безопасности II класса;
- ПЦР-бокс;
- детектирующий амплификатор (ДТ-322, ДТлайт¹, ДТпрайм², ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология» или iCycler iQ и iQ5 производства Bio-Rad);
- центрифуга для микропробирок, с RCF не ниже 16 000 g;

¹ – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2.

² – только модели 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6.

- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 40 до 95 °С;
- аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- микроцентрифуга/вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- пробирки одноразовые пластиковые объёмом 1,5 мл;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- дозаторы электронные с адаптером и/или дозаторы механические переменного объёма одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл; 200 мкл; 1000 мкл;
- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для аспиратора с колбой-ловушкой;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- контейнер с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов.

Программное обеспечение для амплификаторов детектирующих ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96:

- версия ПО не ниже 7.3, рекомендуемая версия 7.7.5.44³;

³ – по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

<http://www.dna-technology.ru/po/>

- файл с параметрами анализа «HBV_RQ.ini».

ВНИМАНИЕ! Возможность использования других амплификаторов необходимо уточнить у представителя компании «ДНК-Технология».

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используют цельную периферическую кровь человека.

6.1 Взятие образцов периферической крови

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.2 Транспортирование и хранение исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

Транспортировать и хранить образцы крови до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Цельную кровь нельзя замораживать.

6.3 Получение плазмы крови

6.3.1 Пробирки с кровью центрифугируйте при 3000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

6.3.2 После центрифугирования отберите дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

Допускается хранение полученной плазмы при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из плазмы крови

Примечания :

1. Перед началом работы необходимо достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка лизирующий раствор прогреть при 65 °С до полного растворения осадка. Затем перемешать лизирующий раствор переворачиванием флакона вверх дном 5-10 раз, избегая пенообразования.
2. На данном этапе используйте только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
3. Для повышения достоверности получаемых результатов на этапе выделения ДНК исследуемые образцы необходимо продублировать (для одного исследуемого образца провести две отдельные пробоподготовки).

7.1.1 Для исследования промаркируйте следующее количество пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл:

- по 2 пробирки на каждый исследуемый образец плазмы;
- 1 пробирку для отрицательного контрольного образца («К-»);
- 1 пробирку для положительного контрольного образца («К+»).

Образец плазмы	«К-»	«К+»
Пробирка №1	Пробирка «К-»	Пробирка «К+»
Пробирка №2		

Например, для исследования 10 образцов необходимо промаркировать 22 пробирки (20 пробирок для исследуемых образцов, 1 пробирка «К+», 1 пробирка «К-»).

7.1.2 Внесите во все промаркированные пробирки по 10 мкл предварительно перемешанного внутреннего контрольного образца (ДНК-ВК).

7.1.3 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки, закройте крышки пробирок.

Примечание - Для предотвращения контаминации следует перед внесением образцов открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего.

- 7.1.4 Внесите по 100 мкл предварительно перемешанной плазмы в пробирки для исследуемых образцов. В пробирку, промаркированную «К-», внесите 100 мкл отрицательного контрольного образца; в пробирку, промаркированную «К+», внесите 100 мкл положительного контрольного образца ДНК.
- 7.1.5 Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 сек дважды и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 секунд при комнатной температуре.
- 7.1.6 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 15 мин, осадите конденсат центрифугированием при 13000 об/мин в течение 30 сек при комнатной температуре.
- 7.1.7 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на вортексе в течение 3–5 сек дважды.
- 7.1.8 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре.
- 7.1.9 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки)
- 7.1.10 Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и встряхните на вортексе в течение 1-3 сек. Затем 3-5 раз аккуратно переверните пробирки, омывая внутреннюю поверхность крышки.
- 7.1.11 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.
- 7.1.12 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.
- 7.1.13 Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок.

Аккуратно переверните пробирки вверх-вниз, омывая стенки и крышку пробирки. Необходимо проделывать эту процедуру для каждой пробирки индивидуально.

- 7.1.14 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.
- 7.1.15 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.16 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 7.1.17 Добавьте к осадку 25 мкл буфера для растворения. Осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 сек.
- 7.1.18 Прогрейте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин. Осадите капли центрифугированием пробирок при 13 000 об/мин в течение 30 сек при комнатной температуре.
- 7.1.19 Препарат ДНК допускается хранить:
- при температуре от 2 °С до 8 °С не более 7 суток;
 - при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более одного месяца;
 - при температуре от минус 68 °С до минус 72 °С не более одного года.

Примечание - Для постановки ПЦР образцы, хранившиеся при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С и от минус 68 °С до минус 72 °С, необходимо разморозить при комнатной температуре. После этого исследуемые образцы и калибровочные образцы необходимо встряхнуть на микроцентрифуге/вортексе в течение 3–5 сек, затем центрифугировать при 1000–3000 об/мин в течение 3–5 сек при комнатной температуре.

Препарат ДНК готов для постановки полимеразной цепной реакции.

7.2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

- 7.2.1 Промаркируйте необходимое количество пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для исследуемых образцов плазмы крови, положительного контрольного образца ДНК «К+», отрицательного контрольного образца «К-» и по три пробирки для калибровочных образцов («СТ1» и «СТ2»).

Образец плазмы	«К-»	HBV-CT1	HBV-CT2	«К+»
Пробирка №1	Пробирка «К-»	Пробирка «CT1-1»	Пробирка «CT2-1»	Пробирка «К+»
Пробирка №2		Пробирка «CT1-2»	Пробирка «CT2-2»	
		Пробирка «CT1-3»	Пробирка «CT2-3»	

Например, необходимо проанализировать 10 образцов. Нужно промаркировать 20 пробирок для исследуемых образцов; одну пробирку для «К-»; три пробирки для «CT1», три пробирки для «CT2» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 28.

- 7.2.2 Разморозьте при комнатной температуре ПЦР-буфер из комплекта реагентов для ПЦР-амплификации. Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq на микроцентрифуге/вортексе в течение 3–5 сек, затем центрифугируйте при 1000–3000 об/мин в течение 3–5 сек при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТaq необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.2.3 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10x(N+1) мкл ПЦР-буфера;
- 0,5x(N+1) мкл полимеразы ТехноТaq,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К-», «CT1», «CT2», «К+».

Например, необходимо проанализировать 10 образцов. Промаркированных пробирок – 28. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq для 29 (28+1) пробирок, т.е. 290 мкл ПЦР-буфера + 14,5 мкл полимеразы ТехноТaq.

- 7.2.4 Перемешайте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq на вортексе и осадите капли центрифугированием при 1000–3000 об/мин в течение 3–5 сек при комнатной температуре.
- Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа.
- 7.2.5 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл смеси ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq.
- 7.2.6 Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- 7.2.7 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.
- Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл полученного из образцов препарата ДНК, подготовленного согласно пункту 7.1.19, в соответствующие пробирки для исследуемых образцов (2 шт. для каждого образца).
- 7.2.8 Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирку, промаркированную «К–». Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца ДНК, в пробирку, промаркированную «К+».
- 7.2.9 Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл ДНК соответствующего калибровочного образца, подготовленного согласно пункту 7.1.19, в пробирки, маркированные «СТ1» и «СТ2» (3 шт. для каждого калибровочного образца).
- 7.2.10 Центрифугируйте пробирки при 1000–3000 об/мин в течение 3–5 сек при комнатной температуре.
- 7.2.11 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.
- 7.2.12 Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96:

Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «HBV_RQ.ini» (8.1). Далее и при последующих постановках добавьте в протокол тест «HBV_RQ» (9.1), укажите количество и идентификаторы образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (9.1.6) и проведите ПЦР.

При выборе теста «HBV_RQ» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведенная в таблице 2.

Таблица 2 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	94,0	5	00			
2	94,0	0	10	50	√	Цикл
	62,0	0	20			
3	10,0	Хранение		Хранение

7.2.13 Для приборов iQ и iQ5:

Включите прибор и блок питания оптической части прибора, оставьте для прогрева на 30 минут. Запустите программное обеспечение iCycler (или Bio-Rad iQ5). При первой постановке создайте и сохраните новый протокол (8.2, 8.3). При последующих постановках выберите сохраненный протокол, настройте конфигурацию плашки (файл с данными о характеристике образцов и их расположении в плашке) (9.2, 9.3) и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл.

8 СОЗДАНИЕ ТЕСТА (ПРОТОКОЛА) ДЛЯ ДЕТЕКТИРУЮЩИХ АМПЛИФИКАТОРОВ ПРИ ПЕРВОЙ ПОСТАНОВКЕ НА ДАННОМ КОМПЬЮТЕРЕ

8.1 Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

Версия ПО не ниже 7.3, рекомендуемая версия 7.7.5.44⁴.

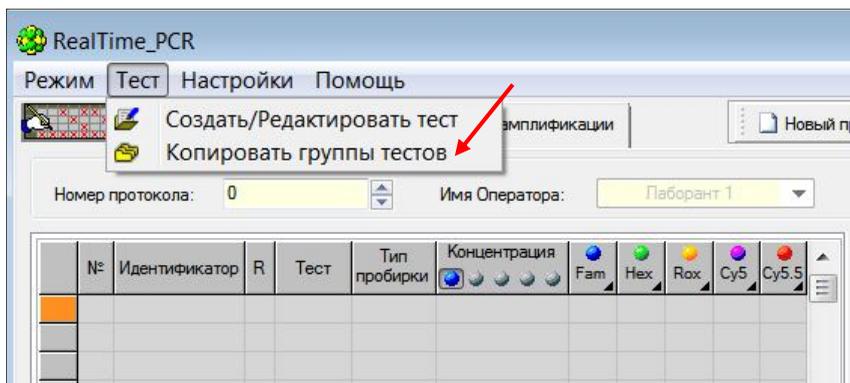
Примечание - Для иллюстраций в настоящей инструкции использованы скриншоты версии 7.3.5.84.

Создание нового теста в программе RealTime_PCR необходимо производить в режиме «Работа с прибором» в следующем порядке:

- 8.1.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, который будет работать с набором ГЕПАТОГЕН-Б количественный, выберите режим «Работа с прибором».

При добавлении нового оператора необходимо создать или выбрать рабочую директорию для сохранения файла с результатами.

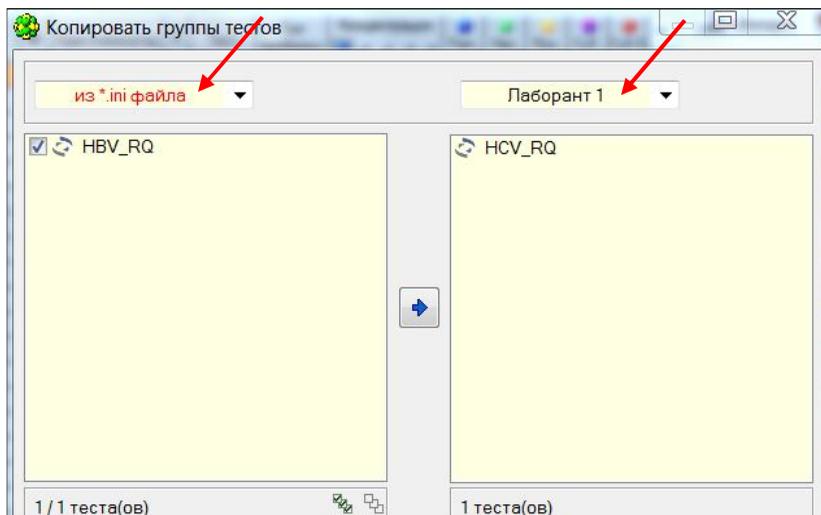
- 8.1.2 В меню «Тест» выберите закладку «Копировать группы тестов».



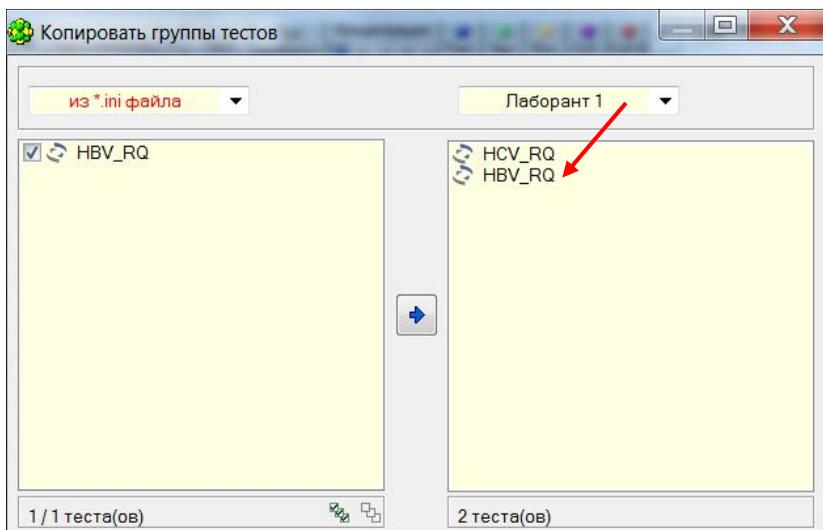
- 8.1.3 В левой половине окна «Копировать группы тестов» выберите строку «из *.ini файла», откройте файл «HBV_RQ.ini».
- 8.1.4 Выберите тест для копирования. В правой половине окна «Копировать группы тестов» выберите оператора, в директорию которому необходимо скопировать тест «HBV_RQ».

⁴ – по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

<http://www.dna-technology.ru/po/>



- 8.1.5 Нажмите кнопку , после чего выбранный тест появится в правой половине окна.



Теперь с тестом «HBV_RQ» может работать оператор, для которого был скопирован тест.

8.2 Для прибора iQ:

- 8.2.1 Откройте программное обеспечение iCycler. Выберите «Library» в левой части окна программы.

- 8.2.2 Отредактируйте и сохраните файл dynamicwf.tmo (таблица 3).
- 8.2.3 Выберите «Производственный модуль» («Workshop») в левой части окна программы. Создайте и сохраните протокол (файл с программой амплификации) (таблица 3). Созданный файл будет сохранен в модуле «Library».

Примечание - Более подробное описание оформления протокола содержится в инструкции к прибору (см. «Руководство пользователя» для iCycler iQ).

Таблица 3 - Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo.					
1	1				
		1	00:30	80,0	
		2	05:00	94,0	
2	5				
		1	00:20	94,0	
		2	00:30	62,0	
3	2				
		1	00:20	80,0	Real Time
Программа амплификации					
4	45				
		1	00:10	94,0	
		2	00:20	62,0	Real Time
5		10,0	storage

8.3 Для прибора iQ5:

- 8.3.1 Откройте программное обеспечение Bio-Rad iQ5. Выберите «Производственный модуль» («Workshop») в левой части окна программы (при запуске программы открывается автоматически).
- 8.3.2 Нажмите кнопку «Protocol» для активации окна «Selected protocol» («Выбранный протокол»).
- 8.3.3 В окне «Selected protocol» нажмите кнопку «Create new» для создания нового протокола (файла с программой амплификации). Откроется окно «Editing Protocol» («Редактирование протокола»).
- 8.3.4 В поле «Editing protocol» введите название протокола.

Примечание - Для наборов «ОТ-Гепатоген-С», «ВГБ-ГЕН», «ОТ-Гепатоген-С количественный», «Гепатоген-Б количественный», «ОТ-Гепатоген-С ГЕНОТИП» используется единая программа амплификации.

8.3.5 Убедитесь, что все кнопки в области «Show Options» («Показать параметры») неактивны (то есть выключены).

8.3.6 Создайте протокол в электронной таблице, расположенной в нижней части окна «Editing Protocol» (таблица 4).

Таблица 4 - Программа амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ5 (при использовании Persistent Well Factor)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
1	1				
		1	05:00	94,0	
2	50				
		1	00:10	94,0	
		2	00:20	62,0	Real Time
3	1				
		10,0	

8.3.7 Сохраните протокол, для этого нажмите на кнопку «Save & Exit Protocol Editing» («Сохранить и покинуть редактирование протокола»). Проверьте название протокола в диалоговом окне «Save As» («Сохранить как»), затем нажмите кнопку «Save» («Сохранить»).

Примечание - Вы можете выйти из Редактора протокола, нажав кнопку «Save & Exit Protocol Editing» или «Cancel & Exit Protocol Editing» («Отменить и выйти из редактирования протокола»).

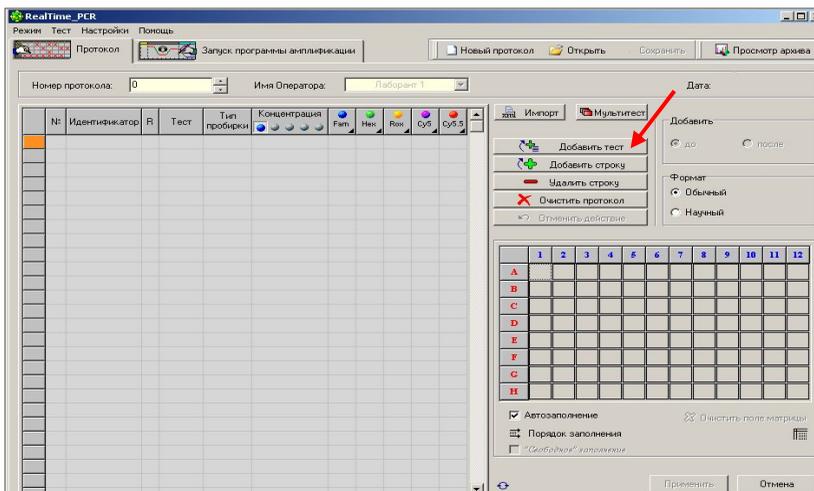
Более подробное описание оформления протокола содержится в инструкции к прибору (см. «Руководство пользователя» для iCycler iQ5).

9 ЕЖЕДНЕВНАЯ РАБОТА С ТЕСТОМ (ПРОТОКОЛОМ)

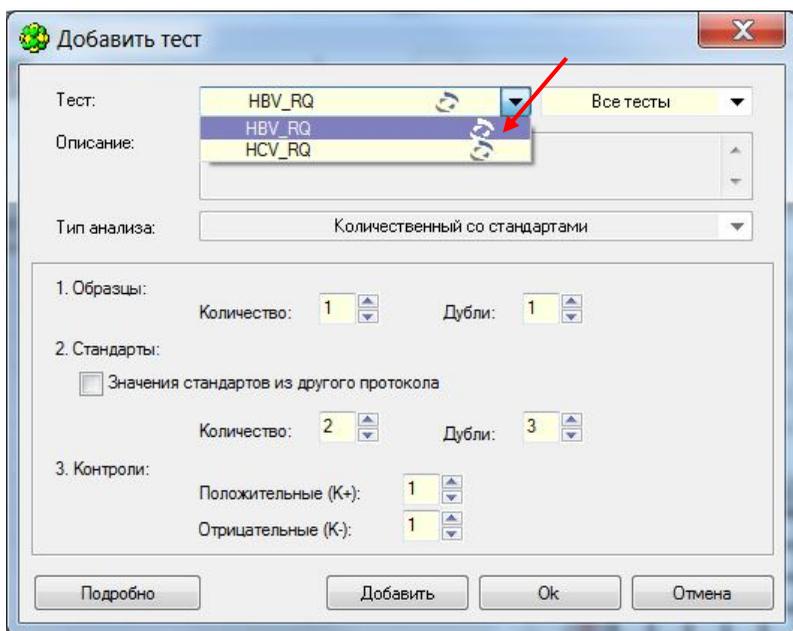
9.1 Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96:

9.1.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, для которого сохранили тест (см. 8.1.1), выберите режим «Работа с прибором».

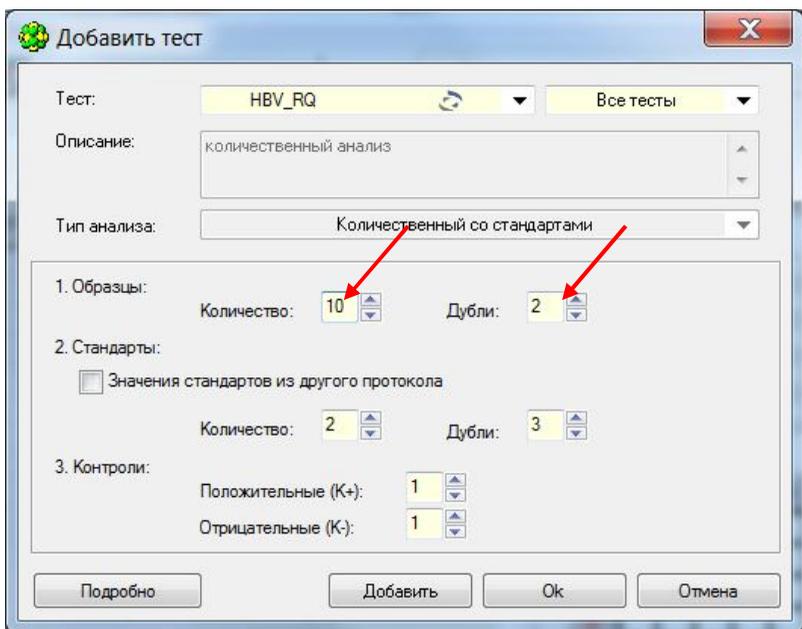
9.1.2 Нажмите кнопку «Добавить тест».



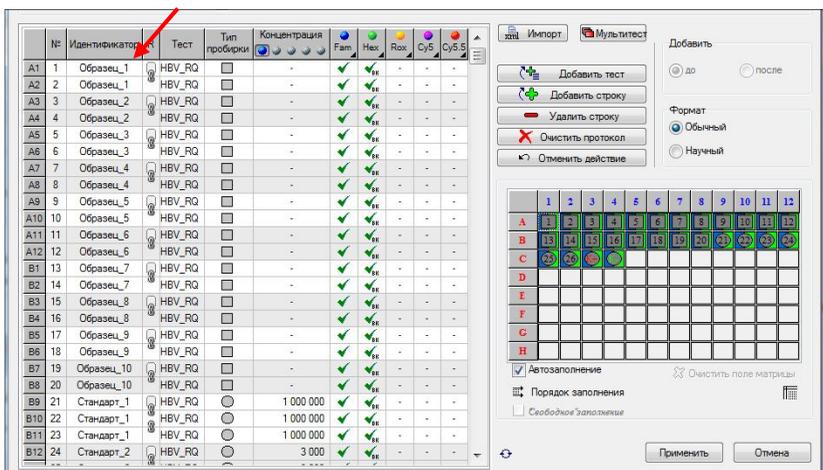
9.1.3 Выберите из списка тест «HBV_RQ».



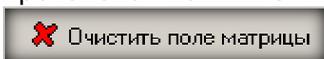
9.1.4 Укажите количество исследуемых образцов в дублях, нажмите кнопку «Ок».



9.1.5 Укажите идентификаторы пробирок.



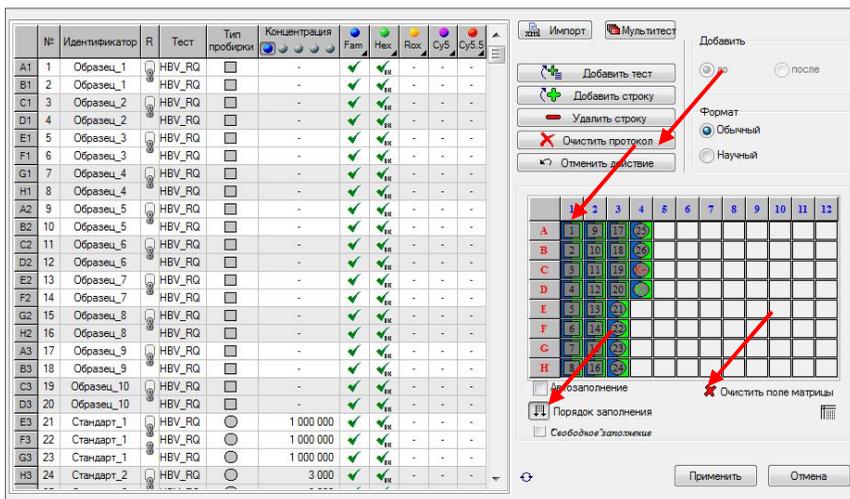
9.1.6 Отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (при ошибочном заполнении протокола нажмите кнопки «Очистить поле матрицы» -



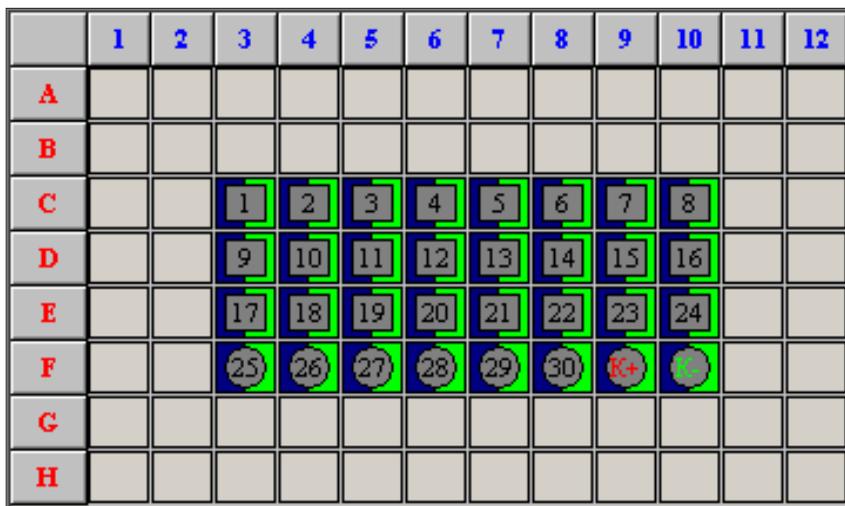
или «Очистить протокол» и



«Порядок заполнения» -

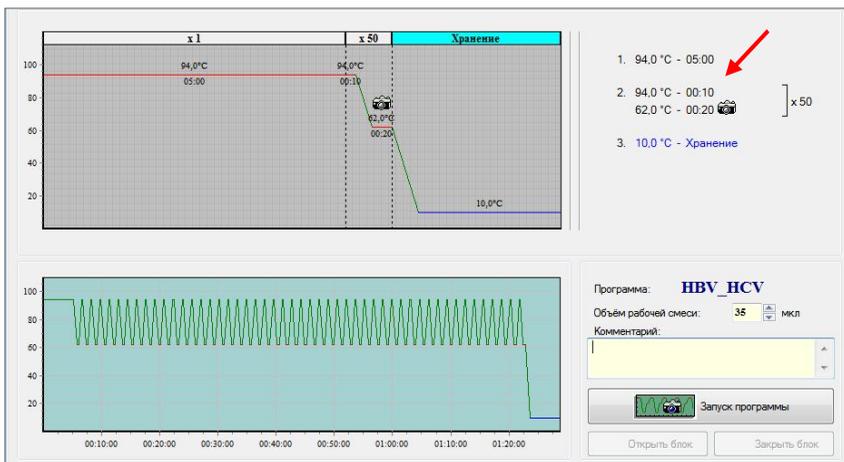


Если термоблок не заполнен полностью, рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой термоблока.



9.1.7 Нажмите кнопку «Применить» в правом нижнем углу окна «Протокол».

9.1.8 В окне «Запуск программы амплификации» будет отображена необходимая программа амплификации.



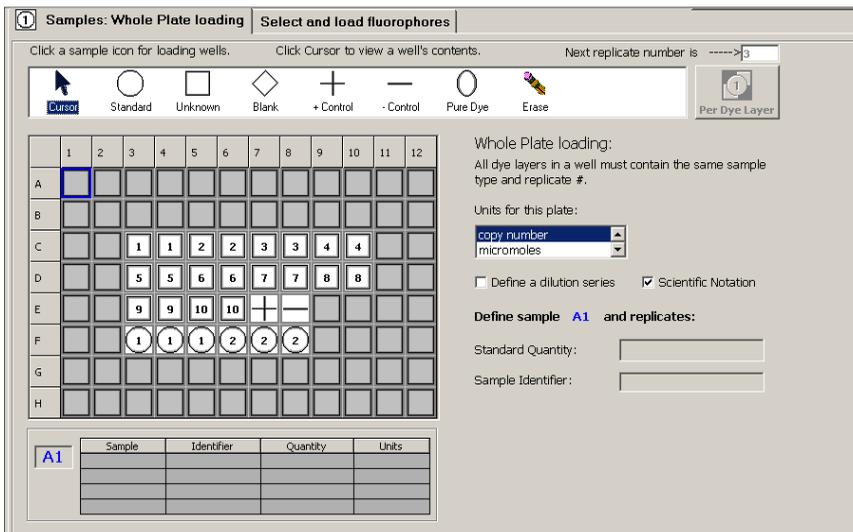
9.1.9 Нажмите кнопку «Запуск программы» в правом нижнем углу окна.

Укажите имя файла и директорию на компьютере для сохранения файла с результатами (по умолчанию будет предложено сохранить файл в рабочую директорию выбранного оператора, см. 8.1.1).

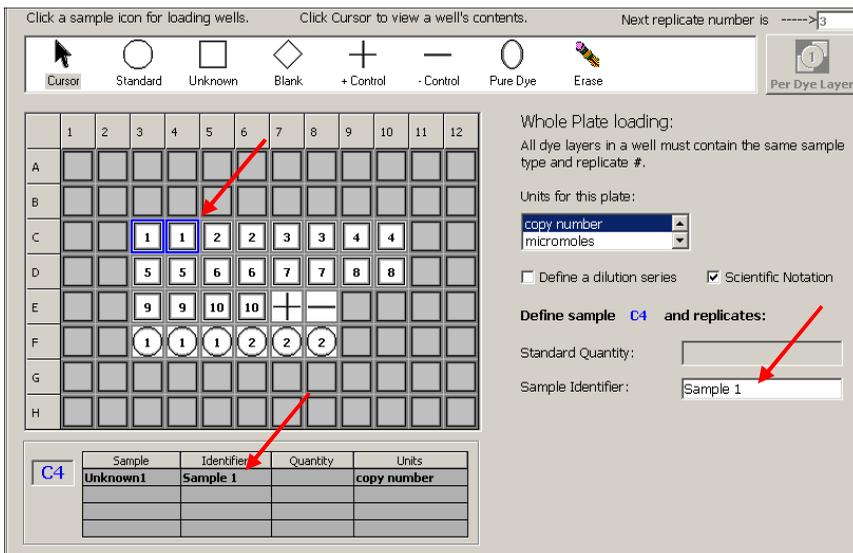
9.2 Для прибора iQ:

9.2.1 Откройте программное обеспечение iCycler. Для постановки ПЦР необходимо создать новый файл настройки плашки. Для этого нажмите на вкладку «View Plate Setup» в «Workshop» и создайте или отредактируйте файл конфигурации плашки.

9.2.2 Выберите вкладку «Samples: Whole plate loading», укажите расположение пробирок в термоблоке (образцы в дублях, положительный и отрицательный контрольные образцы, калибровочные образцы в дублях).



9.2.3 Укажите идентификаторы образцов и концентрацию калибровочных образцов, выбрав в поле «Units» в правой части окна пункт «Copy number». Идентификаторы и концентрацию можно указывать после заполнения плашки, выделив курсором нужный образец.



Whole Plate loading:
All dye layers in a well must contain the same sample type and replicate #.

Units for this plate:

Define a dilution series Scientific Notation

Define sample **F4** and replicates:

Standard Quantity:

Sample Identifier:

Sample	Identifier	Quantity	Units	
F4	Standard1	CT1	1,000e+06	copy number

9.2.4 Нажмите на вкладку «Select and load fluorophores». Выберите флуорофоры FAM-490 и HEX-530. В окне 2 выберите соответствующие флуорофорам цвета.

1. Select or deselect a fluorophore:

- CY3-530
- CY5-635
- FAM-490
- HEX-530
- JOE-530
- LC640-635
- ROX-575
- SYBR-490
- TAMRA-530
- TAMRA-548
- TET-490
- TET-530

2. Assign a color:

- HEX-530
- Color not used
- FAM-490
- Color not used
- Erase

3. Enter plate notes:

Available Filter Wheels:

Define sample wells

4. Load well fluorophores by clicking to select a Fluor pen and then clicking wells that contain a defined sample:

9.2.5 Заполните плашку, отметив оба флуорофора.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C			■	■	■	■	■	■	■	■	■	
D			■	■	■	■	■	■	■	■	■	
E			■	■	■	■	■	■				
F			■	■	■	■	■	■				
G												
H												

- 9.2.6 Сохраните конфигурацию плашки, введя название файла настройки плашки в поле «Plate Setup Filename» и нажав «Save this plate setup». Созданный файл будет сохранен в модуле «Library».

Примечание - Для последующих постановок можно редактировать сохраненный файл настройки плашки, а не создавать его заново.

- 9.2.7 Выберите в модуле «Library» сохраненный ранее протокол, нажав вкладку «View Protocol». Затем перейдите во вкладку «View Plate Setup», выберите созданный файл настройки плашки. Нажмите кнопку «Run with selected protocol». Будет отображено окно «Run Prep» («Подготовка запуска»).

- 9.2.8 В меню «Select Well factor Source» выберите «Experimental Plate». Проверьте имена файлов протокола амплификации и настроек плашки, убедитесь, что файлы выбраны правильно. Укажите объём реакционной смеси - 35 мкл, нажмите «Begin Run» и сохраните в выбранной директории файл сбора и сохранения данных.

Примечание - Более подробное описание работы с прибором содержится в инструкции к прибору (см. «Руководство пользователя» для iCycler iQ).

9.3 Для прибора iQ5:

- 9.3.1 Откройте программное обеспечение Bio-Rad iQ5. Выберите «Производственный модуль» («Workshop») в левой части окна программы. Нажмите кнопку «Protocol» для активации окна «Selected protocol» («Выбранный протокол»).

- 9.3.2 Выберите необходимый каталог в левой части области просмотра файлов. Выберите необходимый файл с протоколом в правой части области просмотра файлов.

После выбора необходимого протокола его графическое и табличное представление отобразится в нижней части окна.

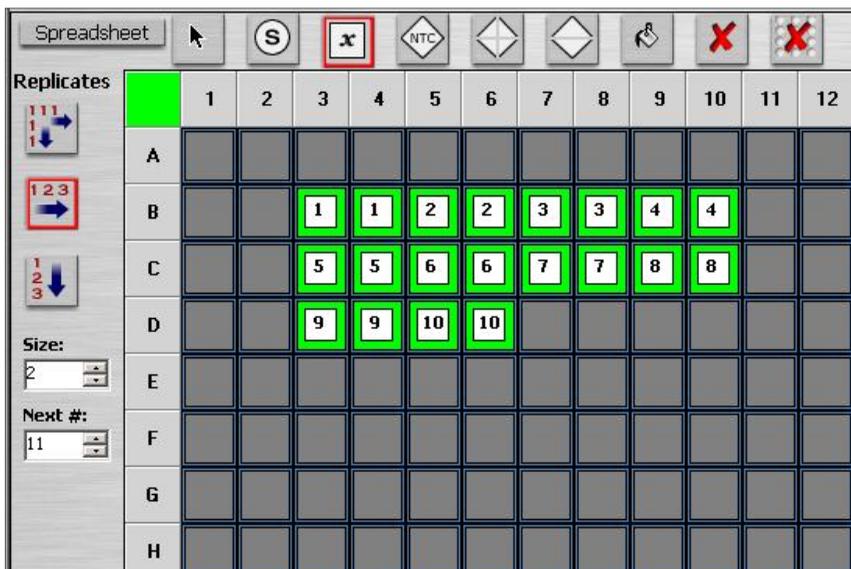
- 9.3.3 После выбора протокола перейдите к настройке конфигурации плашки. В «Производственном модуле» нажмите кнопку «Plate» для активации «Окна конфигурации плашки» («Selected Plate Setup»).
- 9.3.4 Нажмите кнопку «Create New» («Создать новую»), расположенную в нижнем правом окне исходного экрана в «Производственном модуле». Откроется окно «Editing Plate» («Редактирование плашки»).
- 9.3.5 В поле «Editing Plate» введите название файла настройки плашки. Введите объём в поле «Sample Volume» – «35», выберите способ герметизации в поле «Seal Type» и тип пластика в поле «Vessel Type».
- 9.3.6 Включите метку «Whole Plate loading» (активная метка подсвечивается зелёным цветом), нажмите кнопку «Select/Add Fluorophores» («Выбрать/добавить флуорофоры»).
- 9.3.7 В открывшемся окне «Fluor Selector» отметьте флуорофоры FAM и HEX (поставьте галочки в поле «Selected» напротив указанных флуорофоров). Нажмите кнопку «OK» для возврата в окно «Editing Plate».
- 9.3.8 Активируйте кнопку FAM.
- 9.3.9 Укажите расположение неизвестных (исследуемых) образцов. Для этого щелкните по пиктограмме типа образца



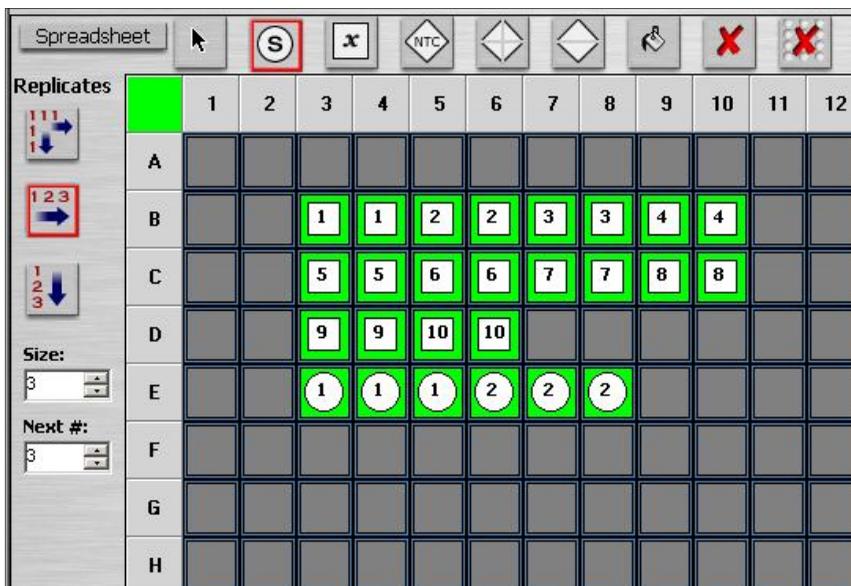
(неизвестный образец); в зависимости от установки

пробирок нажмите кнопку  (повтор дублей по

горизонтали), или кнопку  (повтор дублей по вертикали); укажите в поле «Size» количество дублей «2».



9.3.10 Укажите расположение калибровочных образцов. Для этого щелкните по пиктограмме типа образца  (стандарт), нажмите кнопку  (повтор образцов по горизонтали), укажите в поле Size количество повторов – «3». Отметьте нужные ячейки.



9.3.11 Укажите концентрацию калибровочных образцов. Последовательно выделите нужные ячейки курсором и введите в появившуюся внизу таблицу соответствующую концентрацию для каждого калибровочного образца.

Experiment Name: My experiment | Experiment Type: General

Fluorophore: FAM | Probe/Primer: FAM

Whole Plate loading: | Select/Add Fluorophores

Units: copy number

Apply units to: Whole Plate | Fluorophore

Scientific Notation: | Dilution Series:

Row	Column	Sample Type	Rep #	Identifier/Condition	Quantity	Units
E	3	Standard	1	CT1	1.00E+06	copy number

9.3.12 Укажите положительный и отрицательный контрольные образцы. Для этого щелкните по пиктограмме типа образца (неизвестный образец), нажмите кнопку (повтор образцов по горизонтали), укажите в поле Size количество дублей – «1». Отметьте нужные ячейки.

ВНИМАНИЕ! Положительный и отрицательный контрольные образцы необходимо указать как неизвестные!

9.3.13 Последовательно выделите нужные ячейки курсором и введите в появившуюся внизу таблицу соответствующее обозначение для каждого контрольного образца («Positive control» и «Negative control»).

Experiment Name: My experiment | Experiment Type: General

Fluorophore: FAM | Probe/Primer: FAM

Whole Plate loading: | Select/Add Fluorophores

Units: copy number

Apply units to: Whole Plate | Fluorophore

Scientific Notation: | Dilution Series:

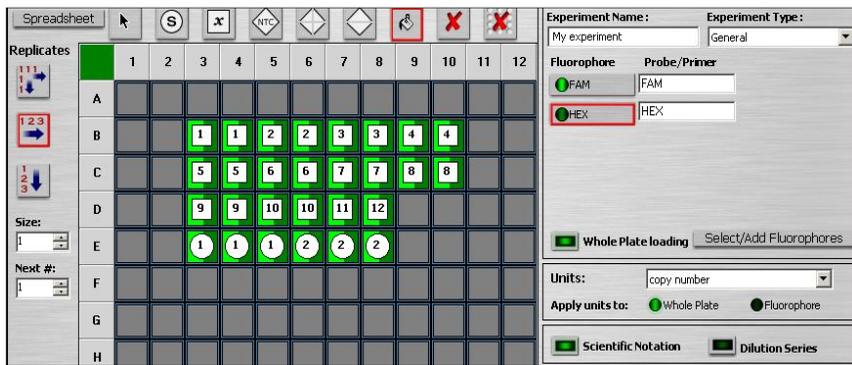
Row	Column	Sample Type	Rep #	Identifier/Condition	Quantity	Units
D	7	Unknown	11	Positive control	N/A	copy number

9.3.14 Активируйте кнопку HEX.



9.3.15 Выберите пиктограмму заливки плашки , щелкните по темно-зелёному квадрату в левом верхнем углу плашки.

9.3.16 Каждая заполненная ячейка в плашке должна быть окрашена в два цвета.



Replicates	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B			1	1	2	2	3	3	4	4		
C			5	5	6	6	7	7	8	8		
D			9	9	10	10	11	12				
E			1	1	1	2	2	2				
F												
G												
H												

9.3.17 Сохраните настройки плашки, для этого нажмите на кнопку «Save & Exit Plate Editing» («Сохранить и покинуть редактирование плашки») в верхнем правом углу окна.

9.3.18 Проверьте название файла плашки в диалоговом окне «Save As» («Сохранить как»), затем нажмите кнопку «Save» («Сохранить»).

Примечание - Вы можете выйти из Редактора плашки, щелкнув по кнопке «Save & Exit Plate Editing» или по кнопке «Cancel & Exit Plate Editing» («Отменить и выйти из редактирования плашки»).

Для последующих постановок можно редактировать сохраненный файл настройки плашки, а не создавать его заново.

9.3.19 После выбора необходимого протокола и файла настройки плашки запустите выполнение протокола. Для этого нажмите кнопку «Run» в правом верхнем углу окна «Setup». Программа перейдет в модуль «Run-Time Central» («Модуль отображения текущего процесса»).

9.3.20 Отметьте окошко «Use Persistent Well Factors» в левой верхней области окна.



- 9.3.21 Проверьте условия постановки амплификации. Протокол, который будет выполняться, находится в нижнем левом углу окна, а настройка плашки, которая будет использоваться, – в нижнем правом углу окна.
- 9.3.22 При необходимости внесите дополнительную информацию об исследовании в окно «Notes» («Примечания»). Эти примечания будут вставлены в экспериментальный файл. Нажмите кнопку «Begin Run» для запуска прогона. Откроется диалоговое окно «Save».
- 9.3.23 Наберите имя для файла оптических данных. iQ5 автоматически сохраняет данные во время эксперимента.

10 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.

После окончания амплификации прибор построит калибровочную прямую, определит концентрацию вируса в анализируемых образцах и сформирует отчет по результатам анализа.

10.1 Для приборов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96:

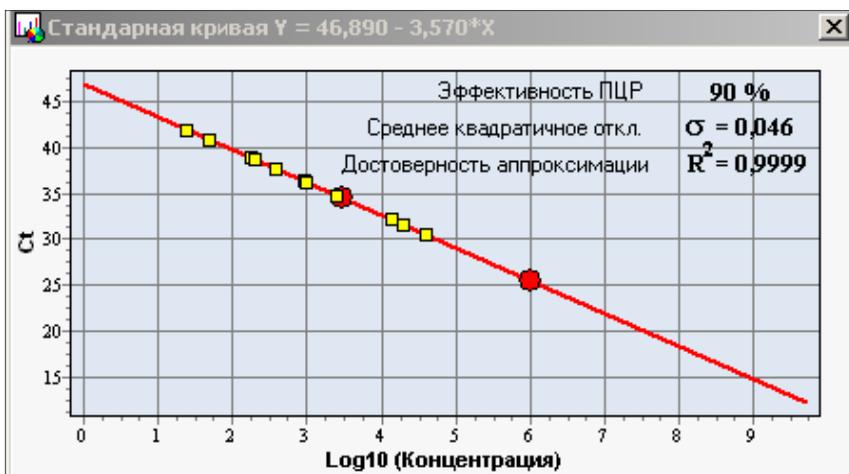
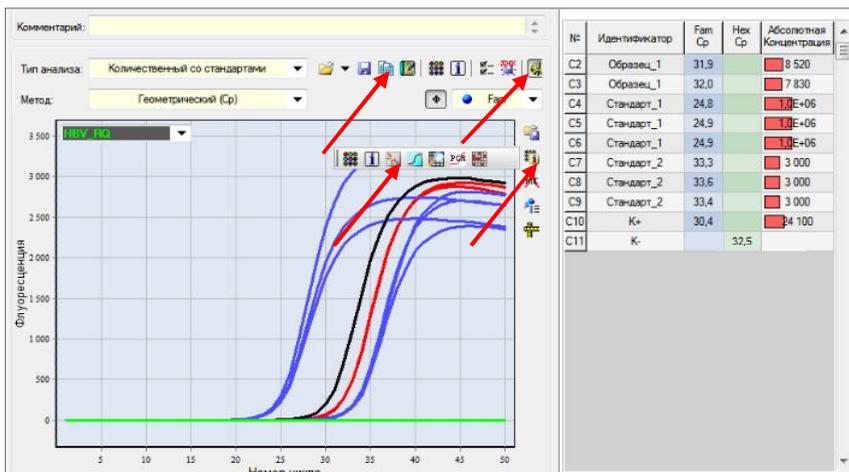
После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов (п.4.6 части 1 («Работа с прибором») Руководства по эксплуатации для амплификаторов детектирующих). Анализ проводится программным обеспечением.

На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла для каждой пробирки в термоблоке. В таблице справа будет показан идентификатор образца, индикаторный цикл (Cp) для каналов Fam и Hex, значение вирусной нагрузки в копиях/мл (количественный анализ).

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

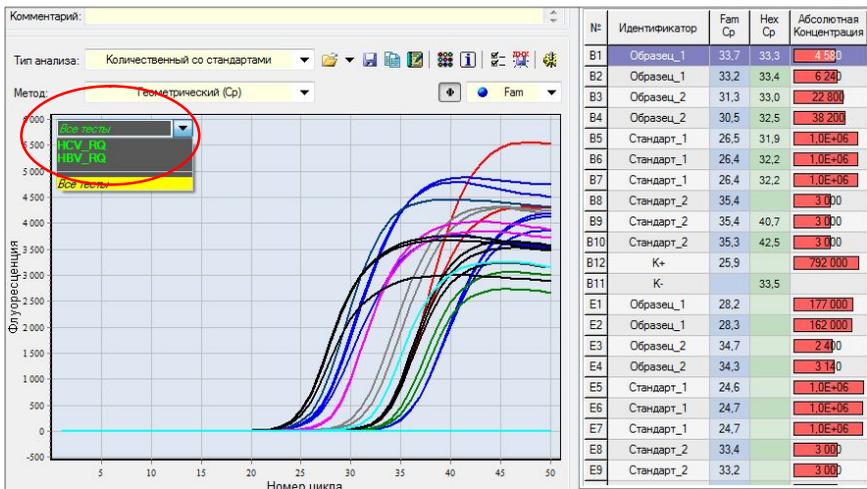
Для создания лабораторного отчёта необходимо нажать

кнопку «Отчет» . График стандартной кривой вызывается на экран кнопкой .

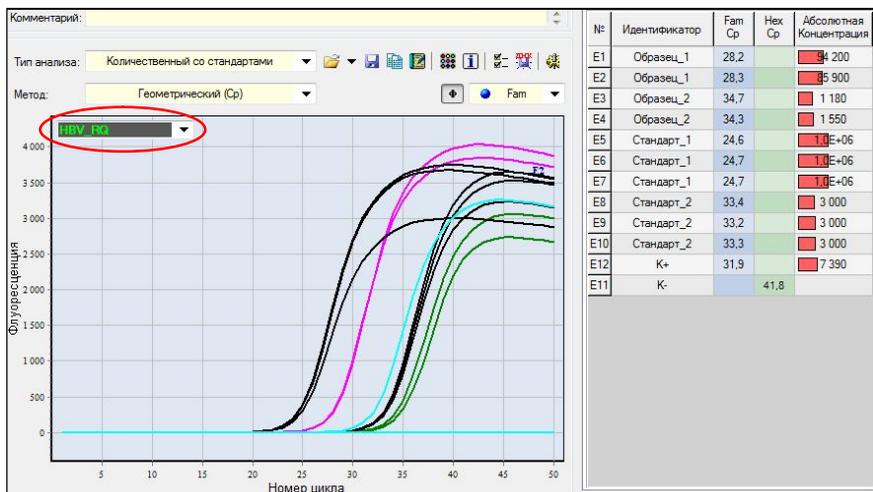


При одновременной постановке в прибор тестов «Гепатоген-В количественный» и «ОТ-Гепатоген-С количественный» по окончании амплификации анализ результатов необходимо проводить для каждого теста отдельно.

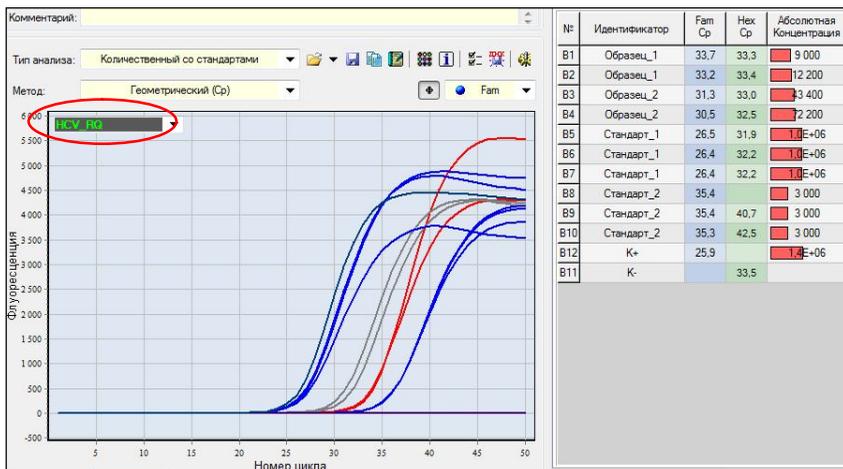
Для этого следует выбрать нужный тест:



На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла для каждой пробирки в термоблоке для выбранного теста.



ИЛИ



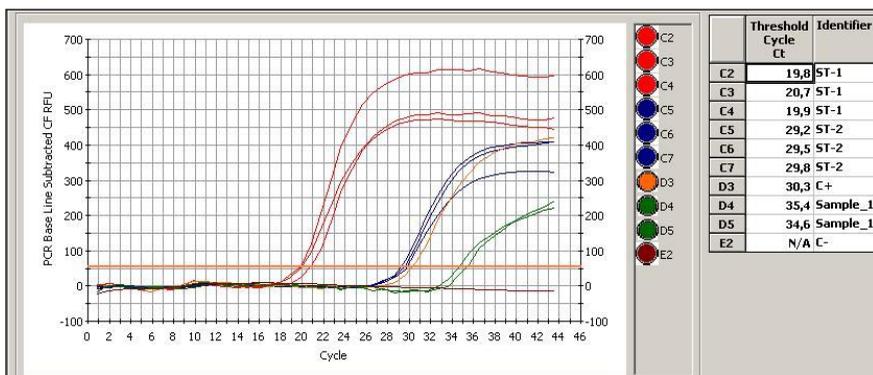
В таблице справа будет показан идентификатор образца, индикаторный цикл (Cp) для каналов Fam и Hex, значение вирусной нагрузки в копиях/мл (количественный анализ).

10.2 Для прибора iQ:

Анализ и представление результатов осуществляется в модуле «Data Analysis» («Анализ данных»).

Закладка «PCR Quantification» включает в себя два окна:

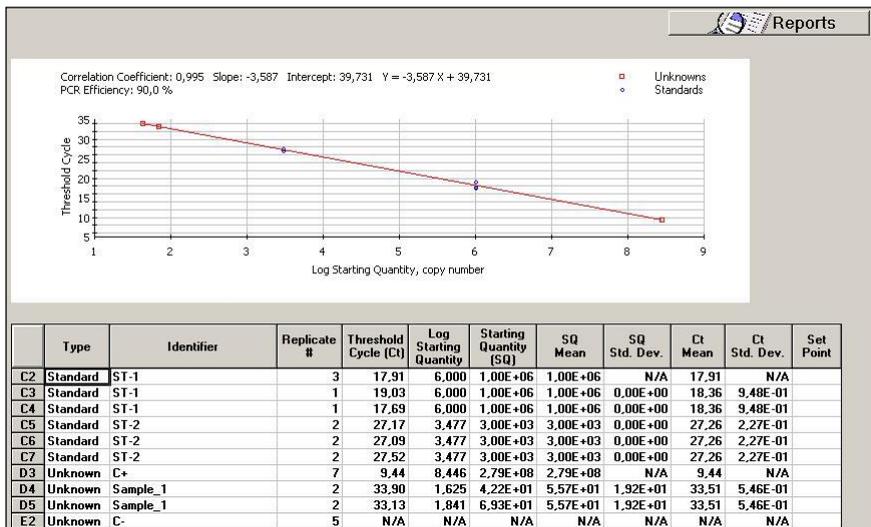
- график амплификации;
- таблицу с показателями Ct и идентификаторами образцов.



Закладка «PCR Standard Curve» включает в себя:

- график стандартной кривой;

- таблицу результатов.



В таблице отображается следующая необходимая информация:

номер лунки;

Type – тип образца:

- **Unknown**– неизвестные образцы,
- **Standart** – калибровочные образцы (стандарты);

Identifier – идентификатор пробирки;

Replicate – номер образца в плашке;

Threshold Cycle (Ct) – пороговый цикл в данной пробирке;

Log Starting Quantity – значение логарифма концентрации;

Starting Quantity (SQ) – концентрация в данной пробирке;

SQ Mean – средняя концентрация в дублях;

Ct Mean – средняя величина порогового цикла в дублях.

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

Для создания отчета необходимо:

1. Нажать кнопку «Reports». Откроется окно «Report Viewer» («Просмотр отчётов»).
2. Выбрать в поле «Select Report» («Выбор отчёта») пункт «Std Curve with Amp Cycle».
3. Выбрать в поле «Sort Data By» («Сортировка данных по...») пункт «Well» («Лунки»).
4. Выбрать метку «Ascending Order» («Сортировка по возрастанию»).

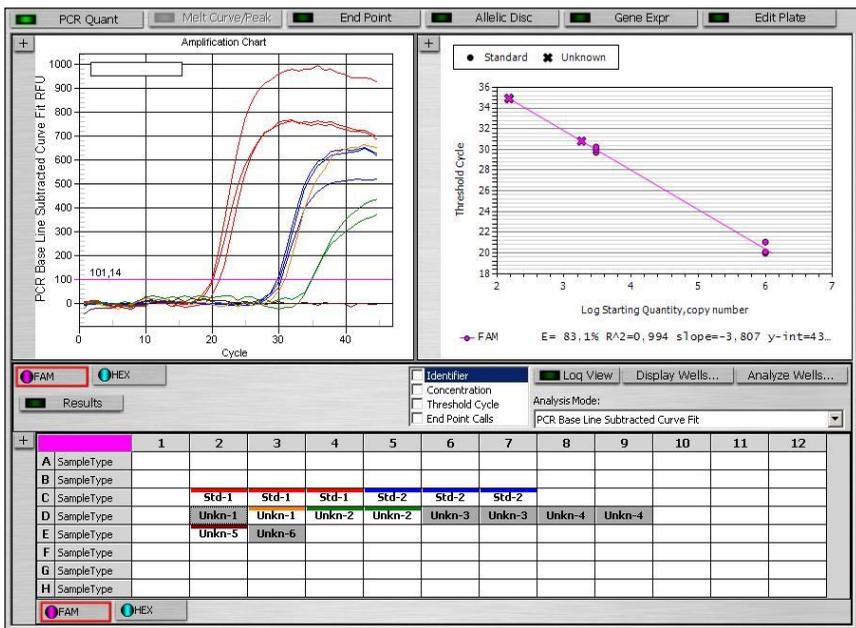
10.3 Для прибора iQ5:

Анализ и представление результатов осуществляется в модуле «Data Analysis» («Анализ данных»).

Нажмите кнопку «PCR Quant» («Количественный анализ ПЦР») для выбора закладки «PCR Quant».

Закладка PCR Quant включает в себя три окна:

- график амплификации,
- график стандартной кривой,
- таблицу результатов.



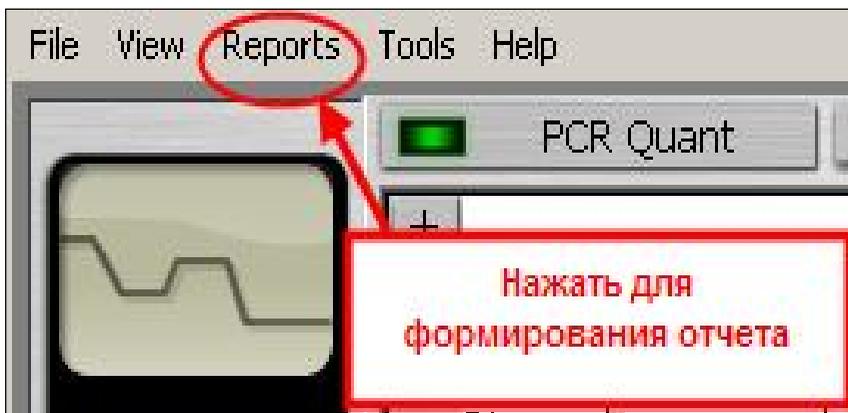
По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

Для создания отчета необходимо:

1. Выбрать оба флуорофора **FAM** и **HEX**. Выбранные флуорофоры выделены красной рамкой.



2. Щелкнуть по пункту «**Reports**» в меню программы.



3. Откроется окно «Report Viewer» («Просмотр отчётов»). Выбрать в поле «Select Report» («Выбор отчёта») пункт «PCR Quant Detailed» («Детализированный отчёт о количественной ПЦР»).
4. Выбрать в поле «Sort Data By» («Сортировка данных по...») пункт «Well» («Лунки»).
5. Выбрать метку «Ascending Order» («Сортировка по возрастанию»).

Результаты анализа представлены в разделе «**Standard Curve Spreadsheet Data**».

В таблице отображается следующая необходимая информация:

Fluor – флуорофор;

Well – номер лунки;

Type – тип образца:

- **Unkn (Unknown)** – неизвестные образцы ,
- **Std (Standart)** – калибровочные образцы (стандарты);

Ident – идентификатор пробирки;

Rep – номер образца в плашке;

Ct – пороговый цикл в данной пробирке;

Log SQ – значение логарифма концентрации;

SQ – концентрация в данной пробирке;

SQ Mean – средняя концентрация в дублях;

Ct Mean – средняя величина порогового цикла в дублях.

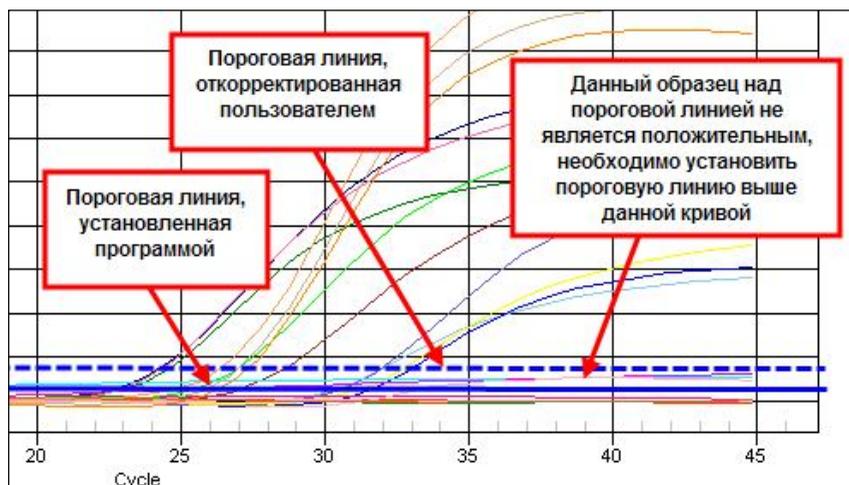
ВНИМАНИЕ! Концентрация вирусов в образце указана в «научном формате»: $e+X$ обозначает X степень числа 10, например, «8,55e+03» следует читать, как «8,55 $\times 10^3$ ».

При выполнении 10.3 рекомендуется обратить внимание на высоту пороговой линии.

Графики кривых положительных образцов должны находиться выше пороговой линии, начиная с порогового цикла.

Графики кривых отрицательных образцов должны находиться ниже пороговой линии.

При необходимости скорректируйте пороговую линию.



11 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1 Эффективность амплификации должна составлять 90–100%.

11.2 Интерпретация результатов проводится в соответствии с

таблицей 5.

Таблица 5 - Интерпретация результатов

Выбранный флуорофор		Интерпретация результата
Fam, значение в диапазоне (SQ Mean для iQ), копий/мл	Hex ⁵ , значение Cp (Ct для iQ5)	
Анализируемые образцы		
7,5x10² – 1x10⁸	Не учитывается	Положительный результат с указанием вирусной нагрузки в образце (копий/мл)
Менее 7,5x10²	Не учитывается	Положительный результат с указанием « менее 750 копий/мл » (без указания точного значения!)
Более 1x10⁸	Не учитывается	Положительный результат с указанием « более 10⁸ копий/мл » (без указания точного значения!)
Не указано (для iQ N/A)	Cp 29-34 (для iQ5 Ct 29-34)	Результат отрицательный (концентрация не указана)
Не указано (для iQ N/A)	Не указан (для iQ N/A)	Результат недостоверный
Положительный контрольный образец⁶		
2,0x10 ⁴ – 9,0x10 ⁴	Не учитывается	Положительный результат с указанием концентрации ДНК в образце (копий/мл)
Отрицательный контрольный образец		
Не указано (для iQ N/A)	Cp 29-34 (для iQ5 Ct 29-34)	Результат отрицательный (концентрация не указана)

11.3 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае необходимо повторно провести ПЦР,

⁵ – если значение Cp (Ct) по каналу Hex больше указанного, результат недостоверный!

⁶ – если в положительном контрольном образце определяемая концентрация ДНК выходит за рамки диапазона 2,0x10⁴–9,0x10⁴ копий/мл, необходимо повторить исследование.

либо выделение ДНК и постановку ПЦР для этого образца, либо взятие клинического материала у пациента (выполняется последовательно).

- 11.4** При получении недостоверного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.
- 11.5** При получении положительного результата на наличие ДНК HBV в отрицательном контрольном образце, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

12 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

- 12.1** Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения комплектов реагентов, входящих в состав набора.
- 12.2** Комплект реагентов для ПЦР-амплификации, кроме пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, калибровочных образцов и положительного контрольного образца следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности. Допускается хранение ПЦР-буфера и минерального масла при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.
- 12.3** Пробирки со смесью для амплификации, запечатанной парафином, калибровочные образцы, положительный контрольный образец и комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот следует хранить в защищённом от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.
- 12.4** Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.
- 12.5** Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению. Для получения надежных результатов

необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

13 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

13.1 Наборы с истекшим сроком годности и неиспользованные реактивы утилизируют в соответствии с требованиями Сан-ПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

13.2 непригодные для использования наборы реагентов, упаковка набора реагентов (пробирки, флаконы, полиэтиленовые пакеты с замком и коробки из картона) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

14 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

14.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

14.2 Срок годности набора – 9 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для количественного определения ДНК вируса гепатита Б (HBV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) ГЕПАТОГЕН-Б количественный, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д. 125ж, корп.6, тел./факс +7 (495) 640-17-71

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:

http://www.dna-technology.ru/customer_support/

Адрес производителя и место производства:

ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская область, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Приложение А
(справочное)

Символы, используемые при маркировке набора

	Только для in vitro диагностики
	Температурный диапазон
	Количество определений
	Годен до
	Серия набора
	Дата производства
	Содержит инструкцию по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Не допускается воздействие солнечного света

Номер 131-12
10.05.17

ДНК-Технология

117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6

Тел./факс +7 (495) 640-17-71

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный)

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)

E-mail: hotline@dna-technology.ru