

# НАБІР ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДНК ВІРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ 2 ТИПУ

## HSV2 DNA Quantitation (QT)

Кат. №: **HSV2DNAQT.CE**  
Кількість тестів: **50**

Дата випуску інструкції: **10-2020**  
Версія: **6**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### Кількісне визначення ДНК ВПГ 2 типу (QT)

ПЛР-РЧ для кількісного визначення геному Вірусу простого герпесу людини 2 типу

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

### А. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір для **Кількісного визначення ДНК Вірусу Простого Герпесу 2 типу** методом ПЛР у режимі реального часу з кат. № **HSV2DNAQT.CE** призначений для кількісного визначення ДНК Вірусу простого герпесу людини 2 типу у плазмі та СМР (спинномозковій рідині) людини з одночасним контролем реакції екстракції/ампліфікації за допомогою **Внутрішнього контролю (ВК)**.

Набір адаптований для використання на Термоциклерах для визначення в режимі реального часу та Системі визначення послідовності ABI 7500® (програмне забезпечення SDS версії 1.3.1, Applied Biosystems™), МХ3000Р (програмне забезпечення МхPro версії 4.01, Stratagene™) та CFX96 (програмне забезпечення CFX manager версії 1.7, Biorad™).

\*Applied Biosystems є зареєстрованою торговою маркою, а ABI PRISM® є торговою маркою Applied Biosystems Corporation або її дочірніх компаній у США та/або деяких інших країнах.

\*\*Biorad є зареєстрованою торговою маркою.

\*\*\*Stratagene є зареєстрованою торговою маркою.

### В. ВСТУП

ВПГ-2 є членом підродини *Alphaherpesvirinae*. Інфекції, спричинені вірусом простого герпесу (ВПГ), дуже поширені, а серопревалентність ВПГ-2 у дорослих коливається від 10 до 25%. Інфекція ВПГ у імунокомпетентних осіб зазвичай не викликає серйозних проблем зі здоров'ям. ВПГ-2 зазвичай асоціюється з генітальним герпесом. Може виникнути реактивація ВПГ в центральній нервовій системі, яка може спричинити широкий спектр клінічних симптомів від легкого менінгіту (Молларета) до важкого енцефаліту зі смертністю до 70% за відсутності терапії. ВПГ-1 і ВПГ-2 відрізняються своєю поведінкою в центральній нервовій системі (ЦНС). ВПГ-2 асоціюється з менінгітом під час первинних інфекцій або супроводжує клінічні та субклінічні реактивації статевих органів. Первинне інфікування новонароджених або реактивація ВПГ у осіб з ослабленим імунітетом можуть бути пов'язані з більш високою частотою менінгіту, важкого енцефаліту та небезпечних інфекцій очей. Геноми ВПГ є складними і містять дві унікальні області, які називаються унікальною довгою (УД) областю і унікальною короткою (УК) областю. З 74 відомих ORF-вірусів, УД містить 56 вірусних генів, тоді як УК містить лише 12.

Віруси герпесу відомі своєю здатністю встановлювати невеличкі інфекції на все життя. Лікування зазвичай включає противірусні препарати загального призначення, які зменшують інфекцію, але не можуть повністю її усунути. Найпоширенішим противірусним засобом є ацикловір або валацикловір. Зменшення вірусного навантаження може зменшити фізичну тяжкість уражень, пов'язаних зі спалахом, і кількість інфікованих клітин, що викидаються організмом, зменшуючи ймовірність передачі іншим.

Діагностику ВПГ у новонароджених, а також у дітей та дорослих значно полегшила наявність діагностичних інструментів для виявлення та кількісного визначення вірусної ДНК. Кількісна ПЛР у реальному часі є швидким, чутливим і специфічним методом діагностики ВПГ-інфекції.

### С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Набір HSV2DNAQT.CE заснований на аналізі в реальному часі, що використовує специфічні Праймери та Проби.

**ДНК ВПГ-2**, виділену з досліджуваного біологічного зразка на етапі екстракції, ампліфікують за допомогою системи ампліфікації в реальному часі. Ампліфікований продукт виявляють і визначають кількісно за стандартною кривою за допомогою проби флуоресцентного контрольного барвника, специфічного для унікальної геномної послідовності ВПГ-2.

Гетерологічний Внутрішній контроль (ВК) служить контролем екстракції/ампліфікації для кожного окремо обробленого зразка з метою ідентифікації інгібіторів реакції.

Надається стандартна крива, що дозволяє визначити вірусне навантаження.

### Д. КОМПОНЕНТИ

Стандартний формат набору з кат. № HSV2DNAQT.CE містить реагенти для 50 тестів.

| Компонент  | Вміст                                    | HSV2DNAQT.CE<br>50 тестів  |
|--|--|--|
| <b>А</b><br>КОД: ALL/ММ-4<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>ПРОЗОРИЙ   | Майстер-мікс                             | х 1 флакон/0.825 мл (ml)   |
| <b>В</b><br>КОД: HSV2/СВ<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>ЖОВТИЙ  | Ліофілізовані<br>Праймери/Проби          | х 2 флакони (розчинити з об'ємом ALL/С, зазначеним на етикетці флакона)  |
| <b>С</b><br>КОД: ALL/С<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>ЧЕРВОНИЙ  | МГ Вода                                  | х 4 флакони/1.5 мл (ml)  |
| <b>NTC</b><br>КОД: ALL/NTC<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>БІЛИЙ   | Негативний<br>контроль                   | х 1 флакон/1.5 мл (ml)   |
| <b>STD</b><br>Кількісний стандарт<br>(3.5x10 <sup>5</sup> копій/мкл<br>(µl))<br>КОД: HSV2/STD<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>ЧЕРВОНИЙ | Ліофілізований<br>Кількісний<br>стандарт | х 6 флаконів (розчинити з об'ємом ALL/С, зазначеним на етикетці флакона) |
| <b>І.С.</b><br>Внутрішній контроль<br>КОД: ALL/ІС<br>КОЛЬОРОВЕ<br>КОДУВАННЯ:<br>ЗЕЛЕНИЙ  | Ліофілізований<br>Внутрішній<br>контроль | х 2 флакони (розчинити з об'ємом ALL/С, зазначеним на етикетці флакона)  |
| Інструкція   | Інструкція по<br>застосуванню            | 1  |

**Важлива примітка:** За запитом Dia.Pro може надати реагенти для 25, 100, 150 тестів, як зазначено нижче:

|                         |                        |                          |                          |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Компонент А          | х1 флакон/0.4 мл (ml)  | х2 флакони/0.825 мл (ml) | х3 флакони/0.825 мл (ml) |
| 2. Компонент В          | х1 флакон              | х4 флакони               | х6 флаконів              |
| 3. Компонент С          | х2 флакони/1.5 мл (ml) | х4 флакони/1.5 мл (ml)   | х6 флаконів/1.5 мл (ml)  |
| 4. NTC                  | х1 флакон/1.5 мл (ml)  | х1 флакон/1.5 мл (ml)    | х1 флакон/1.5 мл (ml)    |
| 5. ІС                   | х1 флакон              | х4 флакони               | х6 флаконів              |
| 6. STD                  | х3 флакони             | х4 флакони               | х6 флаконів              |
| 7. Інструкція           | 1                      | 1                        | 1                        |
| <b>Кількість тестів</b> | <b>25</b>              | <b>100</b>               | <b>150</b>               |
| <b>Код</b>              | <b>HSV2DNAQT.CE.25</b> | <b>HSV2DNAQT.CE.100</b>  | <b>HSV2DNAQT.CE.150</b>  |

### Е. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір HSV2DNAQT.CE необхідно зберігати при +2...8 °C (°C).

Після розчинення **Компонент В** (кодування HSV2/СВ) і **Компонент ВК** (кодування ALL/ІС) стабільні протягом 4 місяців при -20 °C (°C). Після розчинення **Компонент STD** (кодований HSV2/STD) стабільний протягом

2 тижнів при -20 °C (°C). Якщо компоненти повинні використовуватися лише періодично, їх слід заморожувати в аліквотах, слід уникати повторного розморожування та заморожування. Допускається лише одне розморожування.

#### **F. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ**

1. Відкалібровані мікродозатори (0.5 мкл (µl) < об'єм < 1000 мкл (µl)).
2. Набір для екстракції ДНК.
3. MG EtOH.
4. Термоблок.
5. Мікроцентрифуга.
6. Штативи для пробірок.
7. Стерильні фільтровані наконечники з аерозольним бар'єром.
8. Безнуклеазні мікропробірки.
9. 0.2 мл (ml) мікропробірки або мікропланшети для ПЛР, рекомендовані виробниками приладів для ПЛР у реальному часі.
10. Одноразові рукавички без тальку.
11. Термоциклер для ПЛР у реальному часі (\*).
12. Абсорбуючі паперові серветки.
13. Вортекс або подібні інструменти для змішування.

(\* **Увага:** Дійсне калібрування чистих барвників (файл компонентів Pure Spectra) і фону (файл компонентів фону) має виконуватися регулярно.

#### **G. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

1. Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом завідувача лабораторією.
2. Технічний персонал повинен пройти глибоку підготовку щодо використання Термоциклерів у реальному часі, маніпуляції з реагентами молекулярної біології та протоколів ампліфікації ПЛР у реальному часі.
3. Для проведення такого типу аналізу набір необхідно використовувати в лабораторії, сертифікованій та кваліфікованій національним органом у цій галузі (Міністерством охорони здоров'я чи аналогічним органом).
4. Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурам біобезпеки, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, а також повідомляється в публікації Національного інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
5. Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.
6. Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі.
7. Компоненти А і В є світлочутливими. Захистіть їх від впливу сильного світла.
8. Уникайте вібрації стола, де проводиться випробування.
9. Отримавши набір, зберігайте його при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
10. Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекоменується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не замінювалися.
11. Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або агрегатів. Якщо ні, порекомендуйте завідувачу лабораторії розпочати необхідні процедури із заміни набору.
12. Уникайте перехресного забруднення між зразками, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка.
13. Уникайте перехресного забруднення між реагентами набору, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх між використанням кожного з них.
14. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішній етикетці контейнера.
15. Розглядайте всі зразки як потенційно інфекційні. З усіма зразками крові/плазми/СМР людини слід поводитись на рівні 2 біобезпеки, як це рекомендує Центр контролю за захворюваннями, Атланта, США, відповідно до публікації Інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
16. Зберігайте та екстрагуйте зразки окремо від інших реагентів та використовуйте окреме приміщення для роботи з ними.

17. Розчиніть ліофілізовані реагенти з правильною кількістю, зазначеною на етикетках, води молекулярного класу (Компонент С, кодування: СС), що постачається в наборі.
18. Виконуйте всі робочі операції якомога швидше, зберігаючи компоненти на льоду або в охолоджувальному блоці.
19. Робочий процес лабораторії має відбуватися в односпрямованому напрямку, починаючи з Зони екстракції та переходячи до зон Ампліфікації та Аналізу даних. Не повертайте зразки, обладнання та реагенти в зону, де були виконані попередні дії.
20. Використання одноразового пластикового посуду рекомендується для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
21. Відходи, що утворились під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворюються внаслідок процедур екстракції, повинні бути оброблені як потенційно інфекційний матеріал та інактивовані перед утилізацією. Не допускайте контакту відходів екстракції з відбілювачем.
22. Випадкові розливи зразків та під час роботи повинні бути адсорбовані паперовими рушниками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім рушники слід утилізувати у належні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
23. Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

#### **H. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Кров забирається асептично шляхом венепункції, і підготовлюється плазма з застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу.
2. Збір спинномозкової рідини (СМР) проводиться асептично шляхом люмбальної пункції.
3. Жодного впливу не спостерігалось при приготуванні зразка з цитратом чи ЕДТА.  
Увага: Гепарин ( $\geq 10$  МО/мл (IU/ml)) впливає на реакції ПЛР.  
Не слід використовувати зразки, зібрані в пробірки, що містять гепарин в якості антикоагулянту. Також не можна використовувати зразки пацієнтів із гепарином.
4. Уникайте будь-якого додавання консервантів до зразків.
5. Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів.
6. Гемолізовані («червоні») та помітно гіперліпемічні («молочні») зразки не слід використовувати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів. Зразки, що містять залишки фібрину або важких частинок чи мікробні нитки та тіла, не слід використовувати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
7. Плазму та СМР, якщо вони не використовуються негайно, після збору необхідно аліквотувати та зберігати при -20 °C .. -80 °C (°C). Зразки можна зберігати замороженими при температурі -80 °C (°C) протягом кількох місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморожувати більше одного разу, оскільки це може вплинути на результат тесту.
8. Зразки плазми для екстракції ДНК необхідно відбирати відповідно до звичайних лабораторних процедур. Зразки плазми та СМР транспортувати та зберігати при +2-8 °C (°C) протягом максимум 4 годин, їх можна зберігати замороженими при -20 °C (°C) максимум 30 днів або при -70 °C (°C) протягом більш тривалого періоду.
9. Для оптимального зберігання зразків ми рекомендуємо розділити їх на кілька аліквот (мінімальний об'єм 300 мкл (µl)) і зберігати замороженими при -20 °C (°C) максимум 30 днів або -70 °C (°C) протягом більш тривалого періоду. Уникайте повторних циклів заморожування/розморожування.
10. Використовуючи заморожені зразки, розморожуйте їх безпосередньо перед екстракцією, щоб уникнути можливих випадків деградації нуклеїнової кислоти.
11. Зразки цільної периферичної крові для екстракції ДНК повинні бути зібрані в ЕДТА згідно з рекомендаціями лабораторії, транспортуватися та зберігатися при +2-8 °C (°C) протягом максимум 3 днів. Не заморожуйте зразки цільної периферичної крові, щоб уникнути лізису клітин і втрати вірусного титру.

## I. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

### Майстер-мікс:

**Компонент А.** Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі та центрифугуйте протягом невеликого відрізка часу, щоб зібрати весь об'єм.

**ПОПЕРЕДЖЕННЯ: Компонент А чутливий до світла. Захистіть його від впливу сильного світла.**

### Праймери/Проби:

#### Компонент В.

- Центрифугуйте флакон при 11000 об/хв (rpm) протягом 1 хвилини.
- Обережно відкрийте кришку флакона, уникаючи дисперсії порошку.
- Повністю розчиніть Ліофілізований Компонент В з об'ємом Компонента С (код: ALL/C), зазначеним на етикетці флакона.
- Тримайте його на столі принаймні 10 хвилин при кімнатній температурі (15 °C (°C) < KT < 25 °C (°C)).
- Перемішайте на вортексі.

**ПОПЕРЕДЖЕННЯ: Компонент В чутливий до світла. Не піддавайте його впливу сильного світла.**

### МГ вода:

**Компонент С.** Готовий до використання.

### Негативний Контроль:

**N/C.** Готовий до використання.

### Стандартна крива:

#### STD.

- Центрифугуйте флакон при 11000 об/хв (rpm) протягом 1 хвилини.
- Обережно відкрийте кришку флакона, уникаючи дисперсії порошку.
- Повністю розчиніть Ліофілізований STD з об'ємом Компонента С (код: ALL/C), зазначеним на етикетці флакона.
- Тримайте його на столі принаймні 10 хвилин при кімнатній температурі (15 °C (°C) < KT < 25 °C (°C)).
- Перемішайте на вортексі.
- Підготуйте 4 безнуклеазні пробірки для приготування стандартної кривої.
- Налаштуйте серійне розведення 1:10 у Компоненті С (код: ALL/C), щоб отримати точки стандартної кривої, як описано в таблиці нижче:

| Підготовка Стандартної кривої |                                     |  |
|-------------------------------|-------------------------------------|--|
| STD                           | Калібратор<br>350000 копій/мкл (µl) | Додайте об'єм Компонента С<br>(код: ALL/C), як написано на<br>етикетці флакона |
| STD 1                         | 35000 копій/мкл (µl)                | 10 мкл (µl) (STD) + 90 мкл (µl)<br>Компонента С (код: ALL/C)                   |
| STD 2                         | 3500 копій/мкл (µl)                 | 10 мкл (µl) (STD 1) + 90 мкл (µl)<br>Компонента С (код: ALL/C)                 |
| STD 3                         | 350 копій/мкл (µl)                  | 10 мкл (µl) (STD 2) + 90 мкл (µl)<br>Компонента С (код: ALL/C)                 |
| STD 4                         | 35 копій/мкл (µl)                   | 10 мкл (µl) (STD 3) + 90 мкл (µl)<br>Компонента С (код: ALL/C)                 |

### Внутрішній контроль:

#### I.C.

- Центрифугуйте флакон при 11000 об/хв (rpm) протягом 1 хвилини.
- Обережно відкрийте кришку флакона, уникаючи дисперсії порошку.
- Повністю розчиніть Ліофілізований I.C. з об'ємом Компонента С (код: ALL/C), зазначеним на етикетці флакона.
- Тримайте його на столі принаймні 10 хвилин при кімнатній температурі (15 °C (°C) < KT < 25 °C (°C)).
- Перемішайте на вортексі.

## L. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ

1. **Мікродозатори** повинні бути відкалібровані, а також повинно проводитися регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково контактувати зі зразком. Їх також

слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та правдивість +/- 5%.

2. **Набір для екстракції:** Набір HSV2DNAQT.CE призначений для використання тільки в комбінації з набором QIAamp DNA Mini з кодом: 51306 (QIAGEN), набором NucleoSpin Blood з кодом: 740951 (Macherey Nagel), набором NA Body Fluid з кодом: D-2021 (Chemagen, розповсюджується Dia.Pro). Кінцеві користувачі повинні суворо дотримуватися Інструкції з використання, наданої виробниками.
3. **Термоциклери в режимі реального часу та програмне забезпечення приладу.** Набір HSV2DNAQT.CE призначений для використання тільки в поєднанні з Термоциклерами для визначення в реальному часі ABI 7500, програмним забезпеченням SDS версії 1.3.1 (Applied Biosystems), MX3000P, програмним забезпеченням MxPro версії 4.01 (Stratagene) та CFX96 RTS, програмним забезпеченням CFX manager версія 1.7, Biorad). Кінцеві користувачі повинні суворо дотримуватися Інструкції з використання приладів, наданої виробниками.

## M. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЇ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці коробки з набором. Не використовуйте, якщо термін придатності минув.
2. Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені частинками або агрегатами, видимими неозброєним оком. Перевірте, чи на дні флаконів з ліофілізованими компонентами присутній добре сформований агрегат. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломок і не пролило рідини всередині коробки.
3. Розчиніть Ліофілізовані компоненти з відповідною кількістю Компонента С (Код: ALL/C), як описано у відповідному розділі (I).
4. Увімкніть Термоциклери, перевірте налаштування та переконайтеся, що використовуєте правильний протокол аналізу.
5. Суворо дотримуйтеся посібника користувача, наданого виробниками, для правильного налаштування термоциклерів для визначення в режимі реального часу.
6. Перевірте, чи встановлені мікродозатори на необхідний об'єм.
7. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
8. У разі виникнення проблем не продовжуйте тестування і повідомте про це керівника.

## N. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитися відповідно до того, що повідомляється нижче.

### N.1 Екстракція ДНК

Крок екстракції геномної ДНК ВПГ-2 має проводитися виключно в поєднанні з такими наборами:

#### Набори для ручної екстракції

| Матеріал   | Опис                   | Код набору | Виробник |
|------------|------------------------|------------|----------|
| Плазма/СМР | Nucleospin Blood       | 740951     | MN™      |
| Плазма/СМР | Набір QIAamp DNA mini® | 51306      | Qiagen™  |

#### Набір для автоматичної екстракції в поєднанні з DIA.FASTEX

| Матеріал   | Опис                | Код набору | Виробник                           |
|------------|---------------------|------------|------------------------------------|
| Плазма/СМР | Набір NA Body Fluid | D-2021     | Chemagen,<br>дистрибується Dia.Pro |

Виділення ДНК необхідно проводити тільки відповідно до Інструкції з експлуатації (QIAGEN™, MN™, Dia.Pro).

**Важлива примітка:** У процедурах екстракції необхідно суворо використовувати наступні об'єми:

| Опис                   | Об'єм зразка<br>мкл (µl) | Об'єм елювання<br>мкл (µl) |
|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Nucleospin Blood       | 200                      | 100                        |
| Набір QIAamp DNA mini® | 200                      | 100                        |
| Набір NA Body Fluid    | 200                      | 100                        |

ДНК, зібрану із зразків, не використану під час аналізу, слід зберігати замороженою (-20 °C (°C)/-80 °C (°C)).

**Важлива примітка:** І.С. набору HSV2DNAQT.CE можна використовувати в процедурі ізоляції як контроль екстракції.

Значення Ст Внутрішнього Контролю використовується для оцінки того, чи була процедура екстракції ДНК виконана правильно (див. розділ Q).

#### Для цього застосування

- **Набір Nucleospin Blood та QIAamp DNA mini: Додайте 5 мкл (μl) І.С. до буфера для лізису та суміші зразків і продовжуйте, дотримуючись інструкції з експлуатації, наданої виробником Набору для екстракції.**
- **Набір NA Body Fluid: Додайте 5 мкл (μl) І.С. до буфера для лізису та суміші зразків і продовжуйте, дотримуючись інструкцій, наданих виробником Набору для екстракції.**

#### Н.2 Постановка реакції

Набір **HSV2DNAQT.CE** призначений для використання виключно в комбінації з ABI 7500 (програмне забезпечення SDS версії 1.3.1, Applied Biosystems), МХ3000Р (програмне забезпечення МхPro версії 4.01, Stratagene) та CFX96 (CFX manager версії 1.7, Biorad).

##### Н.2.1 Підготовка ПЛР

**Важливо:** Приклад схеми дозування наведено в Розділі О. Будь ласка, зверніться до нього перед початком операцій, описаних нижче.

- Підготуйте компоненти, як описано в Розділі І.
- Підготуйте необхідну кількість реакційних пробірок або 96-лунковий реакційний планшет для досліджуваних зразків та для Стандартної кривої (підготовленої, як описано в розділі І).

**Важлива примітка:** Використовуйте лише оптичні пробірки або мікропланшети, рекомендовані виробниками термоциклерів для визначення в режимі реального часу.

- Врахуйте, що зразки, якщо це можливо, повинні бути аналізовані в дублях.
- Включіть принаймні 1 пробірку для NTC (негативний контроль).
- Приготуйте **Ампліфікаційну Суміш** для **Зразків, NTC та стандартної кривої**, як показано в таблиці нижче:

#### Приготування Ампліфікаційної суміші (І.С. як Ампліфікаційний контроль)

| Кількість реакцій      |                     | x1                 | x12                 |
|------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| <b>A</b>               | Майстер-Мікс        | 12.5 мкл (μl)      | 150 мкл (μl)        |
| <b>B</b>               | Праймери/Проби      | 2 мкл (μl)         | 24 мкл (μl)         |
| <b>I.C.</b>            | Внутрішній контроль | 0.5 мкл (μl)       | 6 мкл (μl)          |
| <b>Загальний об'єм</b> |                     | <b>15 мкл (μl)</b> | <b>180 мкл (μl)</b> |

**Важлива примітка:** Якщо Внутрішній контроль був доданий під час процедури виділення ДНК, приготуйте **Ампліфікаційну суміш** для **Зразків** як показано в таблиці нижче:

#### Приготування Ампліфікаційної суміші (І.С. як Екстракційний/Ампліфікаційний контроль)

| Кількість реакцій      |                | x1                 | x12                 |
|------------------------|----------------|--------------------|---------------------|
| <b>A</b>               | Майстер-Мікс   | 12.5 мкл (μl)      | 150 мкл (μl)        |
| <b>B</b>               | Праймери/Проби | 2 мкл (μl)         | 24 мкл (μl)         |
| <b>C</b>               | Вода MG        | 0.5 мкл (μl)       | 6 мкл (μl)          |
| <b>Загальний об'єм</b> |                | <b>15 мкл (μl)</b> | <b>180 мкл (μl)</b> |

##### Н.2.2 Процедура ампліфікації

- Внесіть 15 мкл (μl) Ампліфікаційної суміші в кожен реакційну пробірку або лунку мікропланшета.
- Додайте 10 мкл (μl) **Зразків, NTC та стандартної кривої** до реакційних пробірок.
- Щільно закрийте реакційні пробірки.
- Центрифугуйте реакційні пробірки при 2000 об/хв (rpm).
- Не залишайте реакційні пробірки при кімнатній температурі (КТ) більше ніж на 30 хвилин і під впливом світла (накрийте пробірки).

- Завантажте пробірки в Тримач Термоблоку Термоциклера для визначення в режимі реального часу.
- Після операцій налаштування, описаних у Розділі N3 (Програмування приладу), запустіть Термоциклер.

**Важлива примітка:** Ліофілізовані компоненти після розчинення в Компоненті С (MG вода) стабільні не більше 3 годин при зберіганні на льоду або при температурі 2-8 °C (°C).

Наприкінці робочого дня належним чином утилізуйте залишки матеріалу Точок розведення STD.

Невикористаний об'єм Компонента В, STD та І.С. можна заморожувати при -20 °C (°C) і використовувати, як описано в Розділі Е.

#### Н.3 Програмування приладу

Для програмування приладу зверніться до Інструкції з експлуатації приладу, наданої виробниками.

**Важлива примітка:** Для Мх3000Р встановіть «Налаштування підсилення фільтра»: ROX = x1, FAM = x8, VIC/JOE = x1. (див. Інструкцію з експлуатації програмного забезпечення МхPro™ QPCR, стор.41).

##### Н.3.1 Температурний профіль

Температурний профіль наведено в таблиці нижче:

| Крок | Цикл | Температура    | Час       |
|------|------|----------------|-----------|
| 1    | 1    | 50 °C (°C)     | 2 хвилини |
| 2    | 1    | 95 °C (°C)     | 10 хвилин |
| 3    | 50   | 95 °C (°C)     | 15 секунд |
|      |      | 60 °C (°C) (*) | 1 хвилина |

**ВАЖЛИВА ПРИМІТКА: (\*)** крок для збору даних у реальному часі.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ: Налаштуйте Термоциклер для визначення в режимі реального часу з правильним Температурним Профілем, дотримуючись посібника користувача, наданого виробником приладу.

##### Н.3.2 Вибір Детекторів

Дотримуючись інструкцій з експлуатації Термоциклерів для визначення в режимі реального часу (ABI 7500, BioRad CFX96 та МХ3000Р Stratagene), виберіть Детектори, зазначені в таблиці нижче:

| Виявлення                  | Репортер | Гасник           |
|----------------------------|----------|------------------|
| ВПГ-2                      | FAM      | Нефлуоресцентний |
| Внутрішній Контроль (І.С.) | JOE/VIC  | Нефлуоресцентний |
| Пасивний Стандарт          | ROX      | Не присутній     |

ПОПЕРЕДЖЕННЯ: Налаштуйте Термоциклер для визначення в режимі реального часу з відповідними налаштуваннями згідно з посібником користувача, наданого виробником.

#### О. СХЕМА АНАЛІЗУ

Нижче наведено приклад схеми дозування для Кількісного аналізу:

##### Мікропланшет або пробірки

|          | 1                                    | 2         | 3 |
|----------|--------------------------------------|-----------|---|
| <b>A</b> | <b>STD 1</b><br>35000 копій/мкл (μl) | Зразок 4  |   |
| <b>B</b> | <b>STD 2</b><br>3500 копій/мкл (μl)  | Зразок 5  |   |
| <b>C</b> | <b>STD 3</b><br>350 копій/мкл (μl)   | Зразок 6  |   |
| <b>D</b> | <b>STD 4</b><br>35 копій/мкл (μl)    | Зразок 7  |   |
| <b>E</b> | NTC                                  | Зразок 8  |   |
| <b>F</b> | Зразок 1                             | Зразок 9  |   |
| <b>G</b> | Зразок 2                             | Зразок 10 |   |
| <b>H</b> | Зразок 3                             | Зразок 11 |   |

Скорочення: NTC = Негативний Контроль; STD 1, 2, 3, 4 = Стандартна крива ДНК ВПГ-2, Зразок 1, 2, 3 і т. д. = Зразки, що оцінюються.

#### Р. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

##### Р.1 Налаштування перед початком аналізу

Перед початком аналізу:

- Встановіть «**Baseline/Початкові умови**» (рівень фонові флуоресценції), як зазначено нижче:

| «Baseline/Початкові умови» |  |
|----------------------------|--|
| ABI™PRISM® 7500 SDS        | Автоматично встановлені початкові умови  |
| STRATAGENE™ MX3000P®       | <b>Адаптивні початкові умови</b><br>Важливе зауваження: <u>Не використовуйте алгоритм Mx4000 v1.00 - v3.00</u> |
| BIORAD™ CFX96®             | Автоматично розраховані початкові умови  |

– Встановіть вручну «Threshold/Поріг» флуоресценції FAM/JOE/VIC.

| «Threshold/Поріг» флуоресценції FAM |             |
|-------------------------------------|-------------|
| ABI™ PRISM® 7500 SDS                | <b>0.15</b> |
| STRATAGENE™ MX3000P®                | <b>0.15</b> |
| BIORAD™ CFX96®                      | <b>400</b>  |

| «Threshold/Поріг» флуоресценції JOE/VIC |             |
|---|-------------|
| ABI™PRISM® 7500 SDS                     | <b>0.1</b>  |
| STRATAGENE™ MX3000P®                    | <b>0.02</b> |
| BIORAD™ CFX96®                          | <b>350</b>  |

## Р.2 Аналіз даних

Перевірка калібраторів STD виконується щоразу, коли використовується набір, щоб переконатися, що їхні значення Ct відповідають очікуванню і вказаним у таблиці нижче.

| ABI™PRISM® 7500 SDS/STRATAGENE™ MX3000P® |                                   |
|--|-----------------------------------|
| Перевірка FAM                            | Вимоги                            |
| STD 1                                    | 19.0 < Ct (Пороговий цикл) < 21.0 |

| BIORAD™ CFX96® |                                   |
|----------------|-----------------------------------|
| Перевірка FAM  | Вимоги                            |
| STD 1          | 20.0 < Ct (Пороговий цикл) < 22.5 |

Крім того, значення Нахилу і R<sup>2</sup> перевіряються, щоб підтвердити якість виконання. Повинні бути виконані наступні вимоги.

| Перевірка FAM | Вимоги              |
|---------------|---------------------|
| Нахил         | -3.1 < Нахил < -3.9 |

| Перевірка FAM | Вимоги                |
|---------------|-----------------------|
| Ефективність  | R <sup>2</sup> > 0.98 |

## Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

Передбачається, що для кожного зразка флуоресценція FAM (позитивне/негативне значення Ct) і флуоресценція Внутрішнього Контролю JOE/VIC валідують виявлення ВПГ-2, як описано в таблиці нижче:

| ВПГ-2 FAM         | Внутрішній Контроль JOE/VIC | Результат Аналізу |
|-------------------|-----------------------------|-------------------|
| ЗРАЗОК ПОЗИТИВНИЙ | 20 < Ct < 40                | ВІРНО             |
|                   | Ct > 40 або невизначено     | ВІРНО*            |
| ЗРАЗОК НЕГАТИВНИЙ | 20 < Ct < 40                | ВІРНО             |
|                   | Ct > 40 або невизначено     | НЕДІЙСНИЙ**       |

\*Концентрація ДНК ВПГ-2 вище за 100 копій/мкл (µl) (позитивний сигнал FAM) може призвести до ЗНИЖЕНОГО або ВІДСУТНЬОГО флуоресцентного сигналу Внутрішнього Контролю І.С. через конкуренцію реагентів.

\*\*У цьому випадку проблеми можуть виникнути на етапі ампліфікації (неефективна ампліфікація або її відсутність) або під час етапу екстракції (наявність інгібіторів або початковий зразок, що містить недостатню кількість клітин), що призводить до некоректних результатів та хибнонегативних результатів. Процедуру тестування необхідно повторити, починаючи з етапу екстракції, використовуючи свіжий зразок, отриманий від пацієнта.

Для кожного позитивного зразка, виявленого за допомогою набору, кат. № HSV2DNAQT.CE, кількісне визначення коливалося від 2.7E+08 до 3.0E-01 копій/мкл (µl), тому вірусне навантаження ВПГ-2 має бути виражене, як зазначено в таблиці нижче:

| ABI™PRISM® 7500 SDS - STRATAGENE™ MX3000P® - BIORAD™ CFX96® |   |
|---|---|
| Дані запуску зразка ВПГ-2 (копій/мкл (µl))                  | Вірусне навантаження ВПГ-2 (копій/мкл (µl)) |
| Кількість > 2.7E+08   | Вірусне навантаження ВПГ-2 > 2.7E+08        |
| 3.00E-01 < Кількість ≤ 2.7E+08                              | <b>КІЛЬКІСНА ОЦІНКА</b>                     |
| Кількість ≤ 3.00E-01  | Вірусне навантаження ВПГ-2 ≤ 3.00E-01       |

**ВАЖЛИВА ПРИМІТКА:** Для кількісного визначення зразків зверніться до Розділу R.

Результати, отримані з набором, кат. № HSV2DNAQT.CE, необхідно інтерпретувати з урахуванням клінічних симптомів та інших лабораторних параметрів, пов'язаних із станом пацієнта.

Можливими є наступні результати:

**Таблиця усунення несправностей**

|                  | FAM | JOE/VIC | Результат   | ПЕРЕВІРИТИ  |
|------------------|-----|---------|---|---|
| ЗРАЗОК невідомий | +   | +/-     | КОРЕКТНИЙ РЕЗУЛЬТАТ <u>Позитивний</u>   | <b>ВАЖЛИВО:</b> Концентрація ДНК ВПГ-2, вища за 100 копій/мкл (µl) (позитивний сигнал FAM), може призвести до ЗНИЖЕНОГО або ВІДСУТНЬОГО флуоресцентного сигналу Внутрішнього Контролю І.С. за рахунок конкуренції реагентів.  |
| ЗРАЗОК невідомий | -   | -       | УВАГА!<br>МОЖЛИВІСТЬ:<br>Інгібування, помилки в процедурі або неправильного функціонування приладів | 1. щоб компоненти були підготовлені правильно;<br>2. щоб в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки;<br>3. щоб вибраними барвниками для виявлення були: FAM для виявлення ВПГ-2 і JOE/VIC для виявлення І.С.;<br>4. щоб аналіз було виконано з правильними налаштуваннями приладу;<br>5. щоб набір правильно зберігався;<br>6. щоб потенційні інгібітори ПЛР не забруднили пробірки;<br>7. щоб процедура екстракції була виконана правильно. |
| ЗРАЗОК невідомий | -   | +       | КОРЕКТНИЙ РЕЗУЛЬТАТ <u>Негативний</u>   |   |
| STD              | +   | +/-     | КОРЕКТНИЙ РЕЗУЛЬТАТ   | <b>ВАЖЛИВО:</b><br>1. Концентрація ДНК ВПГ-2, вища за 1000 копій/мкл (µl) (позитивний сигнал FAM), може призвести до ЗНИЖЕНОГО або ВІДСУТНЬОГО флуоресцентного сигналу внутрішнього контролю І.С. за рахунок конкуренції реагентів.<br>2. Негативний сигнал JOE/VIC є також коректним, якщо І.С. використовувався як контроль екстракції.   |
| STD              | -   | -       | УВАГА!<br>МОЖЛИВІСТЬ:<br>Помилки в дозуванні або в процедурі  | 1. щоб компоненти були підготовлені правильно;<br>2. щоб в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки;<br>3. щоб вибраними барвниками для виявлення були: FAM для виявлення ВПГ-2 і JOE/VIC для виявлення І.С.;<br>4. щоб аналіз було виконано з правильними налаштуваннями приладу;<br>5. щоб набір правильно зберігався;<br>6. щоб потенційні інгібітори ПЛР не забруднили пробірки.   |
| STD              | -   | +       | УВАГА!<br>МОЖЛИВІСТЬ:<br>Помилки в дозуванні або в процедурі  | 1. щоб компоненти були підготовлені правильно;<br>2. щоб в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки;<br>3. щоб вибраними барвниками для виявлення були: FAM для виявлення ВПГ-2 і JOE/VIC для виявлення І.С.;<br>4. щоб аналіз було виконано з правильними налаштуваннями приладу;<br>5. щоб набір правильно зберігався.   |
| NTC              | -   | +/-     | КОРЕКТНИЙ РЕЗУЛЬТАТ   | Негативний сигнал JOE/VIC є коректним тільки якщо І.С. використовувався як контроль екстракції.   |
| NTC              | +   | +/-     | УВАГА!<br>МОЖЛИВІСТЬ:<br>Забруднення  | 1. щоб компоненти були підготовлені правильно;<br>2. щоб в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки;   |

|  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  | 3. щоб робоче місце та інструменти знезаражувалися через регулярні проміжки часу;<br>4. щоб набір зберігався належним чином. |
|--|--|--|--|--|

#### Важливі примітки:

1. Інтерпретація результатів повинна проводитися під наглядом завідувача лабораторії, щоб зменшити ризик помилок у висновках та невірних інтерпретацій.
2. Коли результати випробувань передаються з лабораторії до інформаційного центру, необхідно бути уважними, щоб уникнути передачі помилкових даних.

Якщо результати тесту співпадають з **КОРЕКТНИМ РЕЗУЛЬТАТОМ АНАЛІЗУ**, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу.

Якщо виникає одна чи інша проблема, описана у таблиці вище, після перевірки повідомте про будь-які залишкові проблеми керівнику для подальших дій.

#### R. КІЛЬКІСНА ОЦІНКА

Калібратори STD обробляються як очищені зразки і використовують той самий об'єм - 10 мкл (µl).

Концентрація калібраторів STD виражається в копіях/мкл (µl).

**Концентрація вірусного геному на мл (ml)** для кожного зразка пацієнта розраховується за такою формулою:

$$\text{Результати (копії/мл (ml))} = \frac{\text{копії/мкл (µl) (дані запуску) x Об'єм елюйованого зразка (мкл (µl))}{\text{Об'єм екстрагованого зразка (мл (ml))}}$$

#### Приклад:

Результати (копії/мл (ml)) = 1500 x 100/0.2

Результати (копії/мл (ml)) = 7.50 E+05

#### S. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Оцінка робочих характеристик була проведена відповідно до того, що повідомляється у Внутрішніх Технічних Специфікаціях або ВТС.

Оцінку робочих характеристик проводили в лабораторіях DiaPro з матеріалами, наданими референсними клінічними лабораторіями.

#### S.1 АНАЛІТИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ

Аналітична чутливість може бути виражена як **Межа виявлення** та як **Межа кількісного визначення**.

**Межа виявлення (LOD):** Це найменша кількість цільового значення, яку може виявити система із заданою ймовірністю.

Для тестів АНК вона виражається як найменша концентрація **аналіту**, що за багаторазових повторів дає позитивний результат.

**Межа виявлення (LOD)** визначається шляхом тестування серійних розведень, що містять відомі концентрації аналіту.

**LOD** - це найнижча концентрація аналіту, що може бути постійно виявлена (наприклад, у ≥ 95% зразків у звичайних лабораторних умовах). Для набору, кат. № HSV2DNAQT.CE, **LOD** було визначено шляхом тестування 24 повторів, 8 повторів у трьох різних запусках, найнижчої концентрації аналіту, що може бути виявлена в 100% випадків.

Результати є наступними:

| Межа виявлення       |                    |
|----------------------|--------------------|
| ABI™ PRISM® 7500 SDS | 0.3 копії/мкл (µl) |
| STRATAGENE™ MX3000P® | 0.3 копії/мкл (µl) |
| BIORAD™ CFX96®       | 0.3 копії/мкл (µl) |

Це означає, що для приладів ABI™PRISM® 7500 SDS, STRATAGENE™ MX3000P® та BIORAD™ CFX96® існує 100% ймовірність виявлення 0.3 копій/мкл (µl).

#### S.1.1 Межа кількісного визначення

**Межа кількісного визначення** була отримана шляхом вимірювання **лінійності, динамічного діапазону та відтворюваності**.

**Лінійність** - це міра ступеня наближення кривої до прямої. Вона виражається значенням **SLOPE/НАХИЛ**.

**Динамічний діапазон** - це інтервал концентрацій аналіту, для якого кінцеве вихідне значення (пороговий цикл Ct) системи прямо пропорційне концентрації аналіту з прийнятною правдивістю та точністю.

Межами динамічного діапазону є нижня і верхня межі кількісного визначення (**Межа кількісного визначення**).

У наборі з кат. № HSV2DNAQT.CE було підготовлено граничну криву розведення з визначеними копіями/мкл (µl) плазмід, що несе специфічну цільову вірусну послідовність. Точки розведення перевіряли в аналітичній системі та визначали їх Ct (пороговий цикл).

Верхня **межа кількісного визначення** становить 8.43 log<sub>10</sub> (2.7E+08 копій/мкл (µl)), а **нижня межа кількісного визначення** становить -0.52 log<sub>10</sub> (3.00E-01 копій/мкл (µl)).

#### S.2 АНАЛІТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Аналітична специфічність полягає у здатності методу виявляти та кількісно визначати тільки цільовий маркер.

Аналітичну специфічність аналізу ДНК ВПГ-2 вивчали наступним чином:

1. Набір праймерів/проб було обрано, аналізуючи цільову послідовність геному за допомогою відповідного програмного забезпечення (LionSoft v.1.0 від Biotools і Primer Express v.3.0 від Applied Biosystem Inc.).
2. Набір праймерів/проб і послідовність цільового геному контролюються програмним забезпеченням «BLAST», щоб перевірити, чи має будь-яка з нуклеотидних послідовностей, депонованих у світових геномних банках, гомологію з ВПГ-2, та програмним забезпеченням «ClustalX», щоб порівняти послідовності цільового геному різних генотипів ВПГ-2.
3. Специфічність була покращена шляхом підбору жорстких умов реакції.
4. Зразки від пацієнтів, які страждають від інфекцій, через потенційні інтерферуючі мікроорганізми, були отримані з Референсного клінічного центру.

Результати представлені в наступній таблиці:

| Організм                      | Результат  |
|-------------------------------|------------|
| ЦМВ                           | негативний |
| ВВВ                           | негативний |
| ВЕБ                           | негативний |
| Вірус герпесу 6 типу          | негативний |
| Вірус герпесу 8 типу          | негативний |
| ВПГ-1                         | негативний |
| Вірус JC                      | негативний |
| Вірус ВК                      | негативний |
| Т-лімфотропний вірус людини 2 | негативний |

#### S.3 ДІАГНОСТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ТА ЧУТЛИВІСТЬ

##### S.3.1 Діагностична специфічність

Діагностична специфічність - це ймовірність того, що з набором отримується негативний результат за відсутності цільового маркера. Отже, **справжній негативний** зразок - це зразок, який, як відомо, є негативним для цільового маркера та правильно класифікований з набором.

Цей параметр визначали шляхом дослідження 10 негативних ДНК ВПГ-2 зразків:

|                            |            |
|----------------------------|------------|
| СПРАВЖНІЙ НЕГАТИВНИЙ       | 10         |
| ХИБНОПОЗИТИВНИЙ            | 0          |
| ЗАГАЛЬНА КІЛЬКІСТЬ ЗРАЗКІВ | 10         |
| <b>СПЕЦИФІЧНІСТЬ %</b>     | <b>100</b> |

На основі отриманих результатів розрахована **Діагностична Специфічність системи становить 100%**.

##### S.3.2 Діагностична чутливість

**Діагностична чутливість** - це ймовірність того, що з набором буде отримано позитивний результат за наявності цільового маркера. Отже, **справжній позитивний** зразок - це зразок, який, як відомо, є позитивним для цільового маркера і правильно класифікований з набором.

Для набору, кат. № HSV2DNAQT.CE, цей параметр вивчався під час тестування попередніх панелей QCMD 2017 та QCMD 2019 на вірус простого герпесу (HSVDNA17 - HSVDNA19). Потім розраховували відсоток (%) позитивних зразків.

|                            |            |
|----------------------------|------------|
| СПРАВЖНІЙ ПОЗИТИВНИЙ       | 10         |
| ХИБНОНЕГАТИВНИЙ            | 0          |
| ЗАГАЛЬНА КІЛЬКІСТЬ ЗРАЗКІВ | 10         |
| <b>ЧУТЛИВІСТЬ %</b>        | <b>100</b> |

На основі отриманих результатів розрахована Діагностична Чутливість системи становить 100%.

|                            |      |
|----------------------------|------|
| Діагностична Чутливість    | 100% |
| Діагностична Специфічність | 100% |

Крім того, була розглянута панель програми EQA Вірус Простого Герпесу 2020 як оцінка ефективності.

|                            |            |
|----------------------------|------------|
| ВПГ-2 ПОЗИТИВНІ            | 4          |
| СПРАВЖНІЙ ПОЗИТИВНИЙ       | 6          |
| ХИБНОНЕГАТИВНИЙ            | 0          |
| ХИБНОПОЗИТИВНИЙ            | 0          |
| ЗАГАЛЬНА КІЛЬКІСТЬ ЗРАЗКІВ | 10         |
| <b>ЧУТЛИВІСТЬ %</b>        | <b>100</b> |
| <b>СПЕЦИФІЧНІСТЬ %</b>     | <b>100</b> |

#### 5.4 ТОЧНІСТЬ

Точність показує ступінь надійності системи. Кожній процедурі вимірювання властива випадкова зміна, яка називається «випадкова помилка». Випадкова помилка не має числового значення, але визначається дисперсією вимірювання як стандартне відхилення (DevST) і коефіцієнт варіації (CV%). Зазвичай точність аналізу відноситься до узгодження між повторними вимірюваннями одного і того ж матеріалу. У наборі, кат. № HSV2DNAQT.CE, **точність** виражалася як варіабельність в межах аналізу та варіабельність між аналізами. Точність була протестована в одному запуску (в аналізі) і в трьох різних запусках (між аналізами), 4 точках стандартної кривої у 8 повторях. Потім розраховували варіабельність в аналізі та між аналізами.

За відсутності встановлених міжнародних параметрів ми визначили наступне значення прийнятності для ДНК ВПГ-2:

**Коефіцієнт варіації в межах аналізу (CV%) ≤ 10%.**

**Коефіцієнт варіації між аналізами (CV%) ≤ 10%.**

#### Т. ОБМЕЖЕННЯ

Користувачеві цього набору радимо уважно прочитати та зрозуміти цю інструкцію. Для отримання достовірних результатів тесту необхідно суворе дотримання протоколу. Зокрема, точне дозування зразків і реагентів, застосування правильного робочого процесу разом із ретельним програмуванням кроку термоциклу є важливими для точного та відтворюваного виявлення та кількісного визначення ДНК ВПГ-2. Визначення ДНК ВПГ-2 у зразку плазми або СМР пацієнта має значні медичні, соціальні, психологічні та економічні наслідки. Рекомендується розглядати конфіденційність, відповідне консультування та медичну оцінку як суттєвий аспект послідовності тестування.

#### У. ЛІТЕРАТУРА

1. Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections by real-time PCR. Weidmann M., Meyer-König U., Hufert F.T. J. clin. Microbiol., 2003; 41(4):1565-1568.
2. Molecular Diagnosis of Herpes simplex virus infections in the central nervous system. Tang Y., Shawn Mitchell P., Espy M.J., Smith T.F., Persing D.H. J. Clin. Microbiol., 1999; 37(7):2127-2136.
3. Management of herpes virus infection following transplantation. The British society for antimicrobial chemotherapy, 2000; 45:729-748.
4. Clinical validation of a new triplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection and discrimination of herpes simplex virus type 1 and 2. Rail H., Bartlime A., Drerup J., Grewing T., Korn K. J. mol. Diagn., 2008; 10(4):361-367.
5. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. Cinque P., Cleator G.M., Monteyne P., Sindic C.J., van Loon A. M.. J. Neurology, neurosurgery, and psychiatry, 1996; 61:339-345.
6. Effect of sequence polymorphisms on performance of two real-time PCR assay for detection of herpes simplex virus. Stevenson J., Hymas W., Hillyard D. J. Clin. Microbiol., 2005; 43(5):2391-2398.

7. Real-time PCR for type-specific identification of herpes simplex in clinical samples: evaluation of type specific results in the context of CNS disease. Meylan S., Robert D., Estrade C., Grimbuehler V., Peter O., Meylan P.R., Sahli R. J. clin. Virol., 2008; 41:87-91.

#### 5. СИМВОЛИ

| ПОЯСНЕННЯ УМОВНИХ ЗНАКІВ |                             |  |                                    |
|--------------------------|-----------------------------|--|------------------------------------|
| <b>REF</b>               | Каталоговий номер           |  | Температура зберігання             |
| <b>IVD</b>               | Виріб медичного призначення |  | Дивіться інструкцію з використання |
| <b>LOT</b>               | Номер лоту                  |  | Виробник                           |
|                          | Термін придатності          |  | Кількість тестів                   |
| <b>CE</b>                | Знак відповідності CE       |  | Дата виготовлення                  |

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю відповідно до правила EN ISO 13485. Кожна партія піддається контролю якості та випускається на ринок лише за умови, що вона відповідає технічним специфікаціям ЄС та критеріям прийнятності.



#### ВИРОБНИК

##### DIA.PRO

Diagnostic Bioprobes Srl  
Via G. Carducci n° 27  
20099 Sesto San Giovanni  
(Milano) - Italy  
Phone +39 02 27007161  
Fax +39 02 44386771  
e-mail: info@diapro.it

##### ТОВ ДІА.ПРО

Діагностік Біопробс s.r.l.  
вул. Г. Кардуччі, 27  
20099 Сесто Сан Джованні  
Мілан (МІ) Італія  
тел.: +39 02 2700 7161  
факс: +39 02 44386771  
e-mail: info@diapro.it



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
e-mail: info@diameb.ua  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

