

- Выявление вирусов гепатитов
- Вирусная нагрузка HBV, HCV, HDV
- Генотипирование HBV, HCV
- Прогноз эффективности терапии
- Лекарственная устойчивость



ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЕ: ОТ ОБРАЗЦА К РЕЗУЛЬТАТУ

Одно из преимуществ методов амплификации нуклеиновых кислот - универсальность подхода к проведению анализа. Вне зависимости от вида биоматериала и природы возбудителя этапы выполнения анализа схожи:



Для проведения полного ПЦР-исследования требуются следующие реагенты и оборудование:



ВЗЯТИЕ, ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА БИОМАТЕРИАЛА

ПЛАЗМА (СЫВОРОТКА) ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Взятие периферической крови проводится в пробирку с ЭДТА (фиолетовая крышка). Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. В течение 6 ч с момента взятия крови следует отобрать плазму и перенести её в новую пробирку. Для отделения плазмы пробирку с кровью центрифугируют 20 мин при 800-1600 g. Хранить плазму можно не более 3 сут при

температуре от 2 до 8 °С или не более года при температуре -20 °С. Допускается только однократное замораживание-оттаивание плазмы. Замораживание образцов цельной крови недопустимо. Анализ сыворотки крови допускается, но не рекомендуется: аналитическая чувствительность при этом сохраняется, но клиническая чувствительность анализа существенно снижается. Сроки и условия хранения сыворотки такие же, как и для плазмы.

Наименование	Количество в упаковке	Кат. номер
Вакуумные пробирки Green Vac-Tube с ЭДТА-К3, 3 мл, фиолетовые, 13*75 мм, Green Cross (Корея)	100	GV0413

ФЕКАЛИИ

Фекалии отбирают в контейнер в количестве 1-3 г (1-3 мл) и могут храниться не более 1 суток при температуре от 2 до 8 °С. Для выделения РНК/ДНК используется осветленный экстракт фекалий, для приготовления которого фекалии водянистой консистенции или суспензию фекалий следует интенсивно гомогенизировать на вортексе, затем центрифугировать 5 мин при 10 тыс. g. Надосадочная жидкость представляет собой осветленный экстракт фекалий. При необходимо-

сти хранения надосадочную жидкость отбирают в отдельную одноразовую пробирку и хранят не более 1 сут при температуре от 2 до 8 °С. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Для приготовления суспензии фекалий используется фосфатный буфер или стерильный изотонический раствор натрия хлорида. При необходимости длительного хранения к суспензии фекалий добавляется глицерин.

Наименование	Количество в упаковке	Кат. номер
Контейнер пластиковый «ИЛС» для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов 60 мл с ложкой, в индивидуальной упаковке, стерильный (Россия)	1	ИЛС-КПЛ-60-С

КОНЦЕНТРАТЫ (ЭЛЮАТЫ) ПРОБ ВОДЫ

Воду (сточную, питьевую, из поверхностных водоемов и т.д.) отбирают в стерильную посуду объемом 500 или 1000 мл с непромокаемой пробкой. Вода может храниться не более 1 суток при температуре от 2 до 8 °С или не более 1 мес при температуре -20 °С. Допускается только

однократное замораживание-оттаивание материала. Для приготовления концентратов воды используется метод вакуумной фильтрации (см. Методические указания «МУК 4.2.2029-05 Санитарно-вирусологический контроль водных объектов», Москва, 2006).

ЭКСТРАКЦИЯ РНК И ДНК

Экстракция (выделение) РНК и ДНК – это процесс высвобождения нуклеиновых кислот из клеток и вирусных частиц, а также удаления загрязнителей и ингибиторов. Качество экстракции в значительной степени определяет качество анализа в целом.

Основные наборы реагентов для экстракции РНК и ДНК без использования автоматических станций (вручную):



- для экстракции РНК и ДНК вирусов гепатитов (для качественного, количественного определения и генотипирования):

Наименование	«АмплиПрайм РИБО-преп»	«АмплиПрайм РИБО-сорб»	«МАГНО-сорб»	
Биоматериалы:				
Плазма и сыворотка	✓	✓	✓	
Концентраты (элюаты) воды	✓	-	-	
Фекалии	✓	-	-	
Другие биоматериалы	ликвор, амниотическая жидкость, мазки из носа, зева	ликвор, моча, слюна	-	
Метод экстракции	высаживание нуклеиновых кислот	сорбция нуклеиновых кислот на частицах силикагеля	сорбция нуклеиновых кислот на частицах магнетизированного силикагеля	
Объем биоматериала, мкл	100		200	1000
Объем элюции, мкл	50		50...100	
Количество экстракций	100			
Используемые магнитные штативы	не используются		кат.№ Z5342	кат. №№ Z5342 и Z5343
Каталожный №	104-20	105-20	K2-16-200	K2-16-1000

- для экстракция ДНК человека (для генетического анализа):

Наименование	«АмплиПрайм РИБО-преп»	«АмплиПрайм РИБО-преп» и Гемолитик
Назначение	экстракция ДНК из мазков с внутренней поверхности щеки (буккального эпителия)	экстракция ДНК из цельной крови
Количество экстракций	100	
Каталожные №	104-20	104-20 и 137

Автоматизация экстракции РНК и ДНК позволяет исключить влияние человеческого фактора, существенно повысить качество проводимых анализов, увеличить производительность лаборатории и воспроизводимость результатов исследований. Оборудование и реагенты для автоматизации экстракции РНК и ДНК - см. стр.25.



АМПЛИФИКАЦИЯ И ДЕТЕКЦИЯ

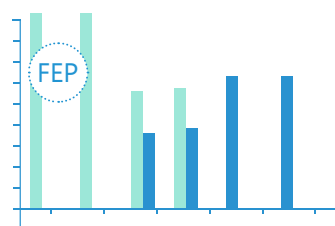
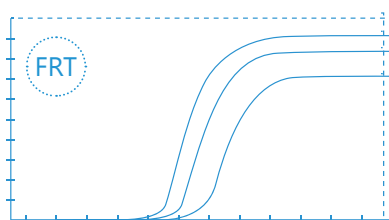
Современные клинико-диагностические лаборатории используют наборы реагентов для ПЦР с двумя вариантами детекции продуктов амплификации нуклеиновых кислот.

Наиболее совершенный формат исследования – это **ПЦР в реальном времени (FRT)**. Высокая скорость выполнения теста, контаминационная защищенность и возможность проведения, все более актуальных в практической медицине количественных исследований – всё это привлекает лабораторию в методе ПЦР в реальном времени.



Метод **ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке (FEP)** взял от ПЦР в реальном времени контаминационную безопасность и возможность автоматического сохранения результатов в электронном виде, но не позволяет проводить количественные исследования, требует дополнительного оборудования и большего времени на выполнение анализа.

Вариант детекции продуктов амплификации	ПЦР в реальном времени	ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке
Обозначение	FRT	FEP
Необходимое оборудование	амплификатор с детекцией в режиме реального времени	амплификатор; флуоресцентный детектор
Возможность количественного анализа	есть	нет
Возможность полной автоматизации	есть	нет



Исторически первый метод ПЦР с электрофоретической детекцией всё реже используется в клинико-диагностических лабораториях ввиду того, что в меньшей степени подходит для рутинных исследований, требует больше помещений и трудозатрат для выполнения исследований и поддержания контаминационной безопасности.

ГЕПАТИТ А

- ▶ Вирусный гепатит А (ВГА) - одна из наиболее распространенных в мире кишечных инфекций. Возбудителем является вирус гепатита А (HAV), относящийся к семейству Picornaviridae. Эпидемиологическая обстановка по ВГА в России остается неблагоприятной - в последние годы отмечается увеличение числа вспышек.

Вирус гепатита А обнаруживается в крови (плазме и сыворотке), фекалиях инфицированных лиц, а также в зараженных питьевых, сточных водах и водах из поверхностных водоемов.

Выявление РНК вируса гепатита А методом ПЦР имеет значительные преимущества по сравнению с ИФА и биохимическими тестами при исследовании контактных лиц, т.к. РНК возбудителя является первым диагностическим маркером, обнаруживаемым в крови в случае инфициро-

вания (появляется в плазме крови на третьей неделе от момента заражения). Anti-HAV IgM появляются в плазме крови через несколько дней или даже недель после появления РНК вируса гепатита А, значимое повышение АЛТ - через две недели. Также выявление РНК вируса гепатита А в воде (питьевых, сточных водах и водах из поверхностных водоемов) методом ПЦР имеет значительное преимущество в чувствительности по сравнению с детекцией антигена вируса.

Набор реагентов **«АмплиСенс® HAV-FL»** предназначен для качественного определения РНК вируса гепатита А в плазме (сыворотке) крови, фекалиях и концентратах (элюатах) воды методом ПЦР в реальном времени.

Аналитическая чувствительность набора реагентов зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	500 копий/мл
200 мкл	250 копий/мл
1000 мкл	50 копий/мл

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V4(RG,iQ)	АмплиСенс® HAV-FL	IVD	RG, iQ, Mx, ДТ, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ОТ-ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 55 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Обратная транскрипция совмещена с этапом амплификации (ОТ-ПЦР)
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов

ГЕПАТИТ В

- ▶ Вирусный гепатит В – широко распространенная инфекция человека, вызываемая ДНК-содержащим вирусом гепатита В, относящегося к семейству *Нерадnaviridae*. В настоящее время в мире насчитывается около 500 миллионов человек, инфицированных вирусом гепатита В. Общее количество больных хроническим гепатитом В достигает 50 млн. человек.

Вирус гепатита В обнаруживается в крови (плазме и сыворотке) инфицированных лиц.

Выявление ДНК вируса гепатита В с помощью ПЦР используется с целью ранней диагностики острого вирусного гепатита В (ДНК HBV появляется в крови в среднем на 3 недели раньше маркера HBsAg), выявления скрытых форм вирусного гепатита В ("occult" hepatitis B) и мутантных по HBsAg штаммов вируса гепатита В.

Определение вирусной нагрузки с помощью ПЦР используется для установления диагноза хронического вирусного гепатита В, мониторинга эффективности противовирусной терапии и

мониторинга активности вирусной репликации у носителей HBsAg.

Генотипирование вируса гепатита В целесообразно в рамках эпидемиологического надзора за вирусом гепатита В, для мониторинга циркулирующих генотипов и прогноза развития эпидемиологической ситуации, а также для индивидуализации терапии и более точного прогноза ее эффективности.

Выявление мутаций устойчивости вируса гепатита В к противоретровирусным препаратам позволяет проводить антивирусную терапию максимально экономично и эффективно.

Набор реагентов «**АмплиСенс® HBV-FL**» предназначен для качественного определения ДНК вируса гепатита В в плазме (сыворотке) крови методом ПЦР в реальном времени.

Аналитическая чувствительность набора реагентов зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	от 50 МЕ/мл
200 мкл	50 МЕ/мл
1000 мкл	10 МЕ/мл

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V5-Mod (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HBV-FL	IVD	RG, iQ, Mx, Dt, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 112 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов

Набор реагентов «АмплиСенс® HBV-Монитор-FL» предназначен для количественного определения ДНК вируса гепатита В в плазме крови методом ПЦР в реальном времени. Аналитические характеристики набора реагентов (при экстракции ДНК из 1000 мкл плазмы крови):

Аналитическая чувствительность	5 МЕ/мл
Линейный диапазон	15-100,000,000 МЕ/мл

Лабораториям, в которых экстракция нуклеиновых кислот выполняется вручную, рекомендуется использовать полные формы выпуска набора:

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Набор для экстракции	Количество реакций амплификации	Количество пациентов*	RUO/IVD	Амплификаторы
TR-V5-P-M (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HBV-Монитор-FL	РИБО-преп	80	47	IVD	RG, iQ, Mx, DT, CFX
TR-V5-S-M (RG,iQ,Mx,Dt)		РИБО-сорб				
TR-V5-M-M (RG,iQ,Mx,Dt)		МАГНО-сорб	160	94		

Лабораториям, выполняющим автоматическую экстракцию нуклеиновых кислот (см. стр. 25) следует использовать форму выпуска набора реагентов, которая не содержит реагентов для экстракции нуклеиновых кислот:

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Набор для экстракции	Количество реакций амплификации	Количество пациентов*	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V5-MC (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HBV-Монитор-FL	приобретается отдельно (определяется используемой станцией для автоматической экстракции)	80	зависит от используемого набора для автоматической экстракции	IVD	RG, iQ, Mx, DT, CFX

* - максимальное количество пациентов, для которых можно определить вирусную нагрузку с помощью одного набора реагентов

- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав наборов реагентов
- В состав наборов входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскладки ее в ПЦР-пробирки

Набор реагентов «АмплиСенс® HBV-генотип-FL» предназначен для генотипирования вируса гепатита В методом ПЦР в реальном времени и позволяет определять генотипы А, В, С и D вируса гепатита В в одной реакционной пробирке.

Аналитическая чувствительность набора реагентов зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	500 МЕ/мл
1000 мкл	50 МЕ/мл

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V5-G-F	АмплиСенс® HBV-генотип-FL	IVD	≥4 канальные RG, iQ, Mx, DT, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 55 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно

Набор реагентов «АмплиСенс® HBV-Resist-Seq» предназначен для выявления мутаций устойчивости вируса гепатита В к противовирусным препаратам методом секвенирования ревертазного домена (RT) Р-гена.

Аналитическая чувствительность набора реагентов при экстракции из 100 мкл плазмы составляет 150 МЕ/мл. Для проведения секвенирования используются реагенты и секвенаторы Applied Biosystems.

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Особенности
TM-V5-F-1	АмплиСенс® HBV-Resist-Seq	RUO	Включает реагенты для стадии циклического секвенирования
M-V5-F-2			Не включает реагенты для стадии циклического секвенирования

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки, очистки продукта амплификации и оценки концентрации продукта амплификации методом электрофореза в агарозном геле и программное обеспечение для автоматической интерпретации результатов
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно

Одновременное выявление и дифференциация вирусов гепатитов В и D

Поскольку вирус гепатита D встречается исключительно в коинфекции с вирусом гепатита В, одновременное выявление этих инфекционных агентов составляет актуальную диагностическую задачу.

Набор реагентов «АмплиСенс® HBV/HDV-FL» предназначен для качественного определения ДНК вируса гепатита В и РНК вируса гепатита D в плазме (сыворотке) крови методом ПЦР в реальном времени в одной реакционной пробирке.

Аналитическая чувствительность набора реагентов в отношении обоих вирусов одинакова и зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	100 МЕ/мл (для HBV), 100 копий/мл (для HDV)
1000 мкл	10 МЕ/мл (для HBV), 10 копий/мл (для HDV)

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V56 (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HBV/HDV-FL	IVD	RG, iQ, Mx, Dt, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и распаковки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 110 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов



ГЕПАТИТ С

- ▶ Вирус гепатита С - РНК содержащий вирус, относящимся к семейству Flaviviridae. Заражение вирусом гепатита С происходит преимущественно при попадании вируса в кровь (при парентеральных вмешательствах или при гемотрансфузиях). Хронический вирусный гепатит С – одно из наиболее распространенных заболеваний печени, ведущих к развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы.

Ведущую позицию в лабораторной диагностике ВГС занимают молекулярно-биологические методы, позволяющие: 1) установить факт инфицированности; 2) установить наличие показаний к противовирусному лечению; 3) выбрать оптимальную схему лечения; 4) своевременно оценить эффективность проводимого лечения и 5) оценить устойчивый ответ на лечение.

Выявление РНК HCV в качественном формате применяется для ранней диагностики острого вирусного гепатита С. РНК ВГС обнаруживается в плазме крови в среднем к 11 дню после заражения. Это позволяет диагностировать острый гепатит С задолго до сероконверсии, что особенно важно для ранней диагностики и проверки донорской крови.

Количественная оценка уровня РНК HCV (вирусной нагрузки) в плазме крови применяется для мониторинга эффективности лечения, что отражено в консенсусном мнении международных экспертов по лечению ХГС и в рекомендациях по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С Минздрава России от 2013 года. Низкой вирусной нагрузкой принято считать значения менее 400 000 - 800 000 МЕ/мл.

Набор реагентов «**АмплиСенс® HCV-FL**» предназначен для качественного определения РНК вируса гепатита С в плазме (сыворотке) крови методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Аналитическая чувствительность набора реагентов зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	100 МЕ/мл
1000 мкл	10 МЕ/мл

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Особенности
R-V1-Mod (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HBV-FL	IVD	RG, iQ, Mx, DT, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 112 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов

Набор реагентов «АмплиСенс® HCV-Монитор-FL» предназначен для количественного определения РНК вируса гепатита С в плазме крови методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Аналитические характеристики набора реагентов (при экстракции ДНК из 1000 мкл плазмы крови):

Аналитическая чувствительность	10 МЕ/мл
Линейный диапазон	30-100,000,000 МЕ/мл

Лабораториям, в которых экстракция нуклеиновых кислот выполняется вручную, рекомендуется использовать полные формы выпуска набора:

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Набор для экстракции	Количество реакций амплификации	Количество пациентов*	RUO/IVD	Амплификаторы
TR-V1-P-M (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HCV-Монитор-FL	РИБО-преп	80	47	IVD	RG, iQ, Mx, DT, CFX
TR-V1-S-M (RG,iQ,Mx,Dt)		РИБО-сорб				
TR-V1-M-MC (RG,iQ,Mx,Dt)		МАГНО-сорб	160	94		

Лабораториям, выполняющим автоматическую экстракцию нуклеиновых кислот (см. стр. X) следует использовать форму выпуска набора реагентов, которая не содержит реагентов для экстракции нуклеиновых кислот:

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Набор для экстракции	Количество реакций амплификации	Количество пациентов*	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V1-MC (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HCV-Монитор-FL	приобретается отдельно (определяется используемой станцией для автоматической экстракции)	80	зависит от используемого набора для автоматической экстракции	IVD	RG, iQ, Mx, DT, CFX

* - максимальное количество пациентов, для которых можно определить вирусную нагрузку с помощью одного набора реагентов

- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав наборов реагентов
- В состав наборов входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскладки ее в ПЦР-пробирки

Генотипирование вируса гепатита С

Генотип вируса гепатита С - наиболее важный фактор, от которого зависит эффективность противовирусного лечения. Согласно современной классификации, выделяют 6 генотипов ВГС, из которых в России наиболее часто встречаются 1, 2 и 3. Согласно Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С Минздрава России от 2013 года, «генотипирование ВГС должно выполняться всем пациентам до начала противовирусной терапии в целях планирования ее продолжительности, эффективности, в отдельных случаях – расчета дозы противовирусных препаратов»..

Генотипирование проводится для образцов РНК, выделенных из плазмы крови с известной вирусной нагрузкой HCV, превышающей аналитическую чувствительность набора реагентов.

Широкий ассортимент наборов реагентов АмплиСенс® для определения генотипов вируса гепатита С позволяет подобрать оптимальное решение для лаборатории и врача-клинициста:

Наименование	АмплиСенс® HCV-1/2/3-FL	АмплиСенс® HCV-генотип-FL, вариант 1-4	АмплиСенс® HCV-генотип-FL, вариант 1-6
Выявляемые генотипы HCV	1, 2, 3	1a, 1b, 2, 3a, 4	1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a, 6
Аналитическая чувствительность (при экстракции из 100 мкл плазмы)	от 5,000 МЕ/мл	от 2,500 МЕ/мл	
Формат исследования	обратная транскрипция совмещена с ПЦР	обратная транскрипция и ПЦР - отдельные этапы	
Количество реакционных пробирок на пациента	1	3	4
Требования к амплификатору	≥4 канальный	≥2 канальный	
Рекомендации по использованию	для определения генотипов 1, 2 и 3 HCV; без субтипирования; для общей популяции	для выявления субтипов 1a, 1b, 2, 3a и 4 HCV; для общей популяции	для выявления субтипов 1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a и 6 HCV; при подозрении на 5a и/или 6 генотип

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Количество тестов, включая контроли	55		
Кат. номер	R-V1-G-4x(RG,iQ,Mx)	R-V1-G(1-4)-2x (RG,iQ,Mx,Dt,Sc)	R-V1-G(1-6)-2x (RG,iQ,Mx,Dt,Sc)
Дополнительно требуется приобрести	Набор реагентов для экстракции	Набор реагентов для экстракции; набор реагентов для обратной транскрипции «РЕВЕРТА-L» (кат. номер K3-4-50)	

В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскладки ее в ПЦР-пробирки

Выявление генетических полиморфизмов, влияющих на эффективность терапии гепатита С

Выявление полиморфизмов в гене IL28B - единственный рекомендованный фармакогенетический тест для инфицированных вирусом гепатита С. Согласно Рекомендациям по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С Минздрава России от 2013 года, «определение генотипа пациента по совокупности аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов rs12979860 и rs8099917 в гене интерлейкина 28 В (IL28В) по данным исследований для пациентов с генотипом 1 ВГС служит надежным предиктором достижения устойчивого вирусологического ответа на фоне проведения двойной и тройной противовирусной терапии».

Набор реагентов **«АмплиСенс® Геноскрин-IL28B-FL»** предназначен для выявления генетических полиморфизмов в локусах rs8099917 и rs12979860 гена интерлейкина 28В методом ПЦР в реальном времени. Биоматериалом для выделения ДНК может служить свежая цельная кровь или мазок с внутренней поверхности щеки (буккальный эпителий).

Дополнительно требуется приобрести:

- набор для выделения «АмплиПрайм РИБО-преп»;
- транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков (кат.№ 958, 959) - только при работе с буккальным эпителием;
- гемолитик (кат.№ 137) - только при работе с цельной кровью.

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD
R-O5-100-F(RG,iQ,Dt,CFX)	АмплиСенс® Геноскрин-IL28B-FL	IVD

- *В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и распапки ее в ПЦР-пробирки*
- *Набор реагентов рассчитан на 110 тестов, включая контроли*

ГЕПАТИТ D

- ▶ Вирус гепатита D (Дельта) - РНК-содержащий несовершенный вирус, относящийся к семейству Deltavirus. HDV нуждается в хелперной функции вируса гепатита В, который обеспечивает вирус гепатита Дельта белками поверхностной оболочки (HBsAg). Поэтому HDV способен к эффективной репликации только в присутствии HBV.

РНК HDV является первым диагностическим маркером, обнаруживаемым в крови пациента, антитела к D-Ag появляются на 2-3 недели позже. Выявление РНК HDV с помощью ПЦР позволяет обнаруживать возбудителя в период инфицирования до сероконверсии, что особенно важно для ранней диагностики.

Распознавание HDV-инфекцию на фоне гепатита В весьма важно, поскольку течение болезни, терапевтические подходы и прогноз при гепатите Дельта отличаются от таковых при гепатите В без гепатита Дельта. Количественное определение РНК вируса гепатита D в плазме крови необходимо проводить в процессе интерферонотерапии для оценки ее эффективности.

Набор реагентов **«АмплиСенс® HDV-FL»** предназначен для качественного определения РНК вируса гепатита D в плазме (сыворотке) крови методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Аналитическая чувствительность набора реагентов зависит от объема биоматериала, взятого для экстракции:

Объем биоматериала	Аналитическая чувствительность
100 мкл	100 МЕ/мл
1000 мкл	10 МЕ/мл

Кат. номер	Наименование набора реагентов	RUO/IVD	Особенности
R-V3 (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HDV-FL	IVD	RG, iQ, Mx, ДТ, CFX

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов рассчитан на 112 тестов, включая контроли
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов

Набор реагентов «АмплиСенс® HDV-Монитор-FL» предназначен для количественного определения РНК вируса гепатита D в плазме крови методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Аналитические характеристики набора реагентов (при экстракции ДНК из 1000 мкл плазмы крови):

Аналитическая чувствительность	30 МЕ/мл
Линейный диапазон	30-100,000,000 МЕ/мл

* - максимальное количество пациентов, для которых можно определить вирусную нагрузку с помощью одного набора реагентов.

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Набор для экстракции	Количество реакций амплификации	Количество пациентов*	RUO/IVD	Амплификаторы
R-V3-MC (RG,iQ,Mx,Dt)	АмплиСенс® HDV-Монитор-FL	приобретается отдельно (определяется используемой станцией для автоматической экстракции)	80	зависит от используемого набора для автоматической экстракции	RUO	RG, iQ, Mx, DT, CFX

- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав наборов реагентов
- В состав наборов входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ В ФОРМАТЕ FEP

ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке может использоваться для выявления в качественном формате РНК/ДНК вирусов гепатитов и для генотипирования вируса гепатита С.

Необходимое для проведения анализа оборудование см. на стр. 25.

Кат. номер	Наименование набора реагентов	Назначение	Амплификаторы	Количество тестов, включая контроли	RUO/IVD	Флуоресцентные анализаторы
V4-FEP	АмплиСенс® HAV-FL	качественное определение РНК вируса гепатита А	A-0,2 A-0,5	55	IVD	≥2 канальные
V5-FEP	АмплиСенс® HBV-FL	качественное определение ДНК вируса гепатита В	A-0,2 A-0,5	110	IVD	≥2 канальные
V1-FEP	АмплиСенс® HCV-FL	качественное определение РНК вируса гепатита С	A-0,2 A-0,5	110	IVD	≥2 канальные
V1-G-FEP	АмплиСенс® HCV-1/2/3-FL	генотипирование вируса гепатита С	A-0,2 A-0,5	55	IVD	≥4 канальные
V3-FEP	АмплиСенс® HDV-FL	качественное определение РНК вируса гепатита D	A-0,2 A-0,5	110	IVD	≥2 канальные

- В состав набора входят отдельные реагенты для приготовления ПЦР-смеси и раскапки ее в ПЦР-пробирки
- Набор реагентов для экстракции в комплект не входит и приобретается отдельно
- Внутренний контрольный образец (ВКО) входит в состав набора реагентов

КОНТРОЛЬНЫЕ ПАНЕЛИ

Контрольные панели состоят из пронумерованных пробирок с жидкими или лиофилизованными образцами, положительными или отрицательными на содержание РНК/ДНК вирусов. Образцы панели инаktivированы, содержат стабилизатор и консервант и не содержат агентов, способных к размножению.

Панели контрольных образцов предназначены для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по выявлению, количественной оценке РНК/ДНК и генотипированию соответствующих вирусов. Образцы панели следует рассматривать как клинический материал. Экстракцию РНК/ДНК из образцов, ПЦР-исследование, учет и анализ результатов проводить согласно инструкции к используемому набору реагентов.

Кат. номер	Наименование	Количество контрольных образцов	Объем образца, мкл	RUO/IVD
CP-86	Панель контрольных образцов «ДНК вируса гепатита В»	6	1200	IVD
CP-86	Панель контрольных образцов «РНК вируса гепатита С»	6	1200	IVD

ОБОРУДОВАНИЕ

Экстракция РНК и ДНК



Автоматизированная станция MagPurix 12 - для лабораторий с малым и средним потоком

- от 1 до 12 образцов в запуске
- время экстракции 12 образцов: 40 мин
- реагенты в запаянных картриджах

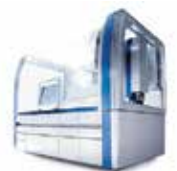
набор для экстракции 48 образцов: «MagPurix Viral Nucleic Acid Extraction Kit» (кат. номер ZP02003-48)



Автоматизированная станция Xiril - для лабораторий со средним и большим потоком

- от 1 до 96 образцов в запуске
- время экстракции 96 образцов: 2 часа
- время экстракции 24 образцов: 45 мин

наборы для экстракции 100 образцов: «МАГНО-сорб» (кат. номера K1-16-200 и K1-16-1000), «Лизирующий реагент» (кат. номер 2496)



Автоматизированная станция Xiril - для лабораторий со средним и большим потоком

- от 1 до 96 образцов в запуске
- время экстракции 24 образцов: 75 мин
- время экстракции 96 образцов: 5 часов

набор для экстракции 192 образцов: «QIASymphony Virus/Bacteria Mini Kit» (кат. номер 931036)

Скапка ПЦР-смеси



Система дозирования жидкостей QIAgility - для лабораторий со средним и большим потоком

- раскапка ПЦР для приборов роторного и планшетного типа
- одновременная раскапка 96-луночного планшета или Gene-Disk 100
- время раскапки 96-луночного планшета или Gene-Disk 100: 40 мин

Аmplification and detection



Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q

- до 100 реакций в одной постановке
- более 150 адаптированных диагностических наборов реагентов
- высочайшая точность количественных исследований
- до 4 анализируемых мишеней в одной ПЦР-пробирке
- специализированное русскоязычное ПО с функцией мини-ЛИС «FRT-Manager»



Прибор для проведения полимеразной цепной реакции MaxyGene Gradient

- до 96 реакций в одной постановке
- более 150 адаптированных диагностических наборов реагентов
- нет необходимости использовать масло
- объем реакционных пробирок: 0,2 мл



Флуоресцентный анализатор АЛА-1/4

- время измерения 48 проб по 4-ем каналам флуоресценции: 30...90 сек
- удобное программное обеспечение на русском языке

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

RUO – наборы реагентов для исследовательских целей

IVD – наборы реагентов для in vitro диагностики

RG – Rotor-Gene 6000/Q (QIAGEN, Германия) и его модификации

iQ – амплификатор iCycler iQ/iQ5 (Bio-Rad, США) и его модификации

Mx – амплификатор Mx3000P (Stratagene, США) и его модификации

ДТ – амплификатор ДТ-96 (ДНК-технология, Россия) и его модификации

CFX – амплификатор CFX96 (Bio-Rad, США) и его модификации

A-0,2 – амплификатор с лунками для пробирок объемом 0,2 мл: GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, США), Gradient Palm Cyclor (Corbett Research, Австралия), Uno II (Biometra, Германия), MiniCycler PTC-100 (MJ Research, Inc.) и аналогичные

A-0,5 – амплификатор с лунками для пробирок объемом 0,5 мл: Терцик (ДНК-технология, Россия) и аналогичные

ALA ¼ – детектор флуоресценции ALA ¼ (Biosan, Латвия)

Джин-4 – детектор флуоресценции Джин-4 (ДНК-технология, Россия)

FRT – ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени

FEP – ПЦР с флуоресцентной детекцией по конечной точке



ООО «ИнтерЛабСервис»
Россия, 115035, г. Москва,
ул. Садовническая, д. 20/13, стр. 2
тел.: +7 (495) 664 28 84, факс: +7 (495) 664 28 89

www.interlabservice.ru