УТВЕРЖДАЮ
Зам. директора Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
_____ В.В.Малеев
«__» _____ 2017 г.

РУКОВОДСТВО ОПЕРАТОРА

по применению программного обеспечения «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр» версия 1.0

АмплиСенс®

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3А

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 3
НАЗНАЧЕНИЕ 3
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА 3
ПРИНЦИП РАБОТЫ 3
УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ 4
ИЗОБРАЖЕНИЯ НА ЭКРАНЕ МОНИТОРА КОМПЬЮТЕРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОГРАМНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ 4
ВЫПОЛНЕНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ 9
Выполнение автоматической обработки результатов в качественном формате 9
Выполнение автоматической обработки результатов в количественном формате .. 11
Использование результатов, полученных для ДНК-калибратора К1 в предыдущей постановке, выполненной на данном приборе, для проведения последующих постановок с использованием данной серии набора реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL». 14
Дополнительные сообщения 15

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем руководстве применяются следующие сокращения и обозначения:

ВПЧ ВКР	- вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция

НАЗНАЧЕНИЕ

Программное обеспечение «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр» версия 1.0 (шаблон расчета результатов в формате Microsoft Excel) предназначено для автоматической обработки результатов при использовании набора реагентов для качественного и количественного определения и дифференциации ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 генотипов в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики in vitro «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL**».**

Дата выпуска: 18.01.16

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

Персональный компьютер с предустановленным ПО Microsoft Office 2003 и выше.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Работа ПО осуществляется при использовании программы Microsoft Excel системы Office, требования к которой приведены на официальном сайте http://technet.microsoft.com/ru-ru/library/ee624351.aspx

Программа Microsoft Excel использует встроенный язык Visual Basic.

В качестве исходных данных ПО «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр» использует значения пороговых циклов (Ct), полученные программным обеспечением прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», для исследуемых образцов, контролей и калибраторов по пяти каналам детекции. Данные могут быть перенесены непосредственно из ПО прибора, либо из файла экспорта данных в Excel.

УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для автоматической обработки результатов необходимо соблюдать следующие условия:

1) Исходные данные должны быть получены ПО используемого прибора, в соответствии с инструкцией по применению к набору реагентов.
2) Заполнение столбцов A g Z q _ y g h ***Ct*** должно проводиться без ошибок, с соответствующим обозначением контрольных образцов.
3) Таблица = j Z g b q g u _ a g Z q _ g h o y вкладке I Z j Z f _ l j u должна быть заполнена в строгом соответствии со вкладышем к используемой серии набора реагентов, типом прибора и использованной программой амплификации.

   Для количественного исследования таблица D h g p _ g l j Z p b b d Z e b [j Z l h j h \ d h i b c j _ Z d p h o x вкладке I Z j Z f _ l j u должна быть заполнена в строгом соответствии со вкладышем к используемой серии набора реагентов, типом прибора и использованной программой амплификации.
4) Необходимо убедиться, что система безопасности Microsoft Excel позволяет использовать макросы. В меню K _ j \ b k ! F Z d j h k ! ; _ a h i Z k g y c t a установите K j _ ^ g b c m j h \ _ g v a Z s b l u
5) Для проведения корректного расчета в столбце B f y должны быть соответствующим образом подписаны контрольные образцы в соответствии с I j b g y l u f b m k e h \ g u f b h [h a g Z q _ g b y f b ^ e y h [b k Z a d p h \ B g k l j m d p). Язык и регистр букв значения не имеет.

ИЗОБРАЖЕНИЯ НА ЭКРАНЕ МОНИТОРА КОМПЬЮТЕРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОГРАМНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

ПО и руководство оператора по применению представлены пользователю на электронном носителе информации (например, оптическом носителе – mini CD) или на сайте Изготовителя.

Вкладка B g k l j m d p:b y

Принятые условные обозначения для образцов

Необходимо использовать данные обозначения в колонке "Имя" для точной обработки результатов эксперимента

Обозначение	Расшифровка	Описание
К1-1, К2-1	*Калибраторы К1 и К2 на смеси FL ВПЧ 1*	Считается удовлетворительным, в случае наличия значений *Ct* по каналам JOE, ROX, FAM, Cy5.
К1-2, К2-2	*Калибраторы К1 и К2 на смеси FL ВПЧ 2*	
К1-3, К2-3	*Калибраторы К1 и К2 на смеси FL ВПЧ 3*	
К1-4, К2-4	*Калибраторы К1 и К2 на смеси FL ВПЧ 4*	
К+ pos	*Положительный контроль ПЦР*	Считается удовлетворительным, в случае наличия значений *Ct* по каналам JOE, ROX, FAM, Cy5. Используется в случае постановки в качественном формате. Необходимо внести граничные значения *Ct* К2 (К+) во вкладку "Параметры".
ОК neg	*Отрицательный контроль экстракции*	Считается удовлетворительным в случае отсутствия значений *Ct* по всем каналам.
#	*Нет образца*	Обозначьте все ячейки, которые не соответствуют реальным образцам, символом *# (необходимо при неполной загрузке ротора RotorGene и реакционного блока планшечных приборов)*. Ячейки, обозначенные таким образом, программой не обрабатываются. Если ни одна пробирка не имеет подписи (колонка "Имя"), а также не содержит никаких данных в колонках "FAM", "JOE", "ROX", "Cy5", то данная пробирка может быть обозначена как пустая **автоматически** (кнопка *"Обозначить неподписанные образцы как пустые"*).

Описание результатов

Результат	Описание
16, 31, 18 39, 45, 59 33, 35, 56, 68 51, 52, 58, 66	Обнаружен ВПЧ соответствующего(их) генотипа(ов).
ОК	Получены правильные результаты для положительных контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции
Валидность-?	Для биологических образцов значения Ct по каналу **Cy5** в пробирках с ПЦР-смесью-FL **ВПЧ 1** и ПЦР-смесью-FL **ВПЧ 2** (ДНК человека) отсутствуют или превышают граничные значения, при этом отсутствуют или превышают граничное значения Ct в остальных пробирках по какому-либо каналу. Требуется повторное ПЦР-исследование данного образца, начиная с этапа экстракции ДНК. В случае если в исследуемом образце ДНК ВКО Glob отсутствует, рекомендуется повторно провести взятие биологического материала и ПЦР-исследование.
Сбой Эфф-ть	Выставляется в случае неправильного внесения значений Ct в колонку "Значения Ct", ошибки прохождения или отсутствия сигнала по какому-либо из каналов детекции для калибраторов К1/К2. Необходимо проверить правильность заданных концентраций ДНК-калибраторов в соответствии с вкладышем к набору реагентов и правильность выбранного уровня пороговой линии. Если при правильно заданных концентрациях ДНК-калибраторов и уровне пороговой линии показатель эффективности не укладывается в требуемый диапазон, следует повторить амплификацию и детекцию для всех образцов.
Контаминация	Для отрицательного контроля экстракции присутствует значение Ct по какому-либо из каналов. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК, начиная с этапа экстракции ДНК.

АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр

Вкладка I Z j Z f _ I j u:

для ПЦР-смеси-FL ВПЧ 1: *для ПЦР-смеси-FL ВПЧ 2:* *для ПЦР-смеси-FL ВПЧ 3:* *для ПЦР-смеси-FL ВПЧ 4:*

Концентрации калибраторов, копий/реакцию

	ВПЧ 16 FAM/ Green	ВПЧ31 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ18 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К1-1				
К2-1				

	ВПЧ 39 FAM/ Green	ВПЧ45 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ59 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К1-2				
К2-2				

	ВПЧ33 FAM/ Green	ВПЧ35 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ68 ROX/ Orange	ВПЧ56 Cy5/Red
К1-3				
К2-3				

	ВПЧ58 FAM/ Green	ВПЧ52 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ66 ROX/ Orange	ВПЧ51 Cy5/Red
К1-4				
К2-4				

Параметры калибровочной линии

FAM/Green (16)	*M* = *B* =	FAM/Green (39)	*M* = *B* =
JOE/HEX/Yellow (31)	*M* = *B* =	JOE/HEX/Yellow (45)	*M* = *B* =
ROX/Orange (18)	*M* = *B* =	ROX/Orange (59)	*M* = *B* =
Cy5/Red (Glob)	*M* = *B* =	Cy5/Red (Glob)	*M* = *B* =

FAM/Green (33)	*M* = *B* =	FAM/Green (58)	*M* = *B* =
JOE/HEX/Yellow (35)	*M* = *B* =	JOE/HEX/Yellow (52)	*M* = *B* =
ROX/Orange (68)	*M* = *B* =	ROX/Orange (66)	*M* = *B* =
Cy5/Red (56)	*M* = *B* =	Cy5/Red (51)	*M* = *B* =

Сохраненные значения калибраторов

	ВПЧ 16 FAM/ Green	ВПЧ31 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ18 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К1-1				

	ВПЧ 39 FAM/ Green	ВПЧ45 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ59 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К1-2				

	ВПЧ33 FAM/ Green	ВПЧ35 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ68 ROX/ Orange	ВПЧ56 Cy5/Red
К1-3				

	ВПЧ58 FAM/ Green	ВПЧ52 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ66 ROX/ Orange	ВПЧ51 Cy5/Red
К1-4				

Граничные значения Ct

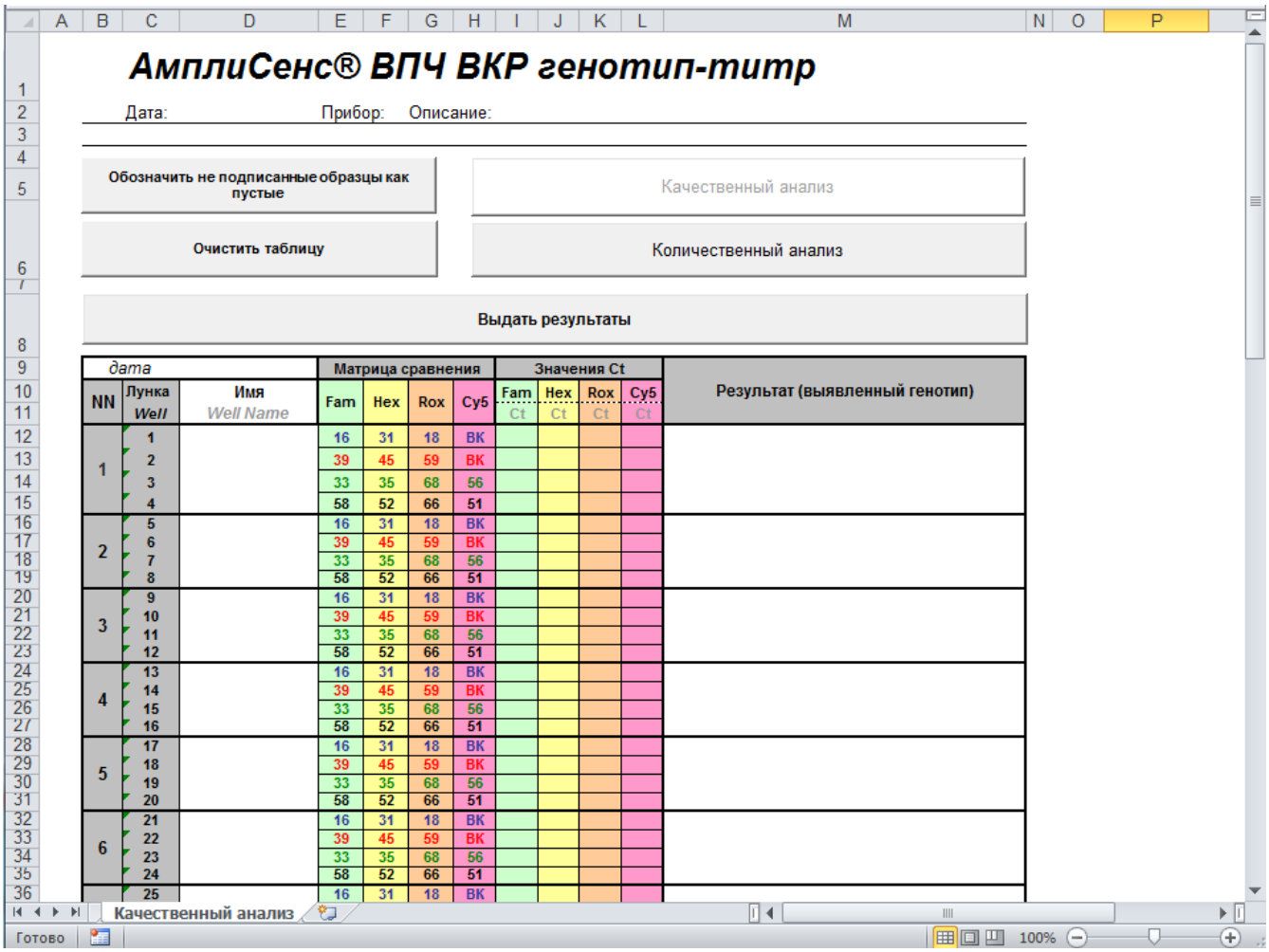
	ВПЧ 16 FAM/ Green	ВПЧ31 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ18 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К2(К+)				
Образцы				

	ВПЧ 39 FAM/ Green	ВПЧ45 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ59 ROX/ Orange	Glob Cy5/Red
К2(К+)				
Образцы				

	ВПЧ33 FAM/ Green	ВПЧ35 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ68 ROX/ Orange	ВПЧ56 Cy5/Red
К2(К+)				
Образцы				

	ВПЧ58 FAM/ Green	ВПЧ52 JOE/HEX/ Yellow	ВПЧ66 ROX/ Orange	ВПЧ51 Cy5/Red
К2(К+)				
Образцы				

Вкладка D Z q _ k l \ _ g g u c Z g Z (отображается при нажатой кнопке D Z q _ k l \ _ g g u c Z g Z e b a):



АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр

Дата: Прибор: Описание:

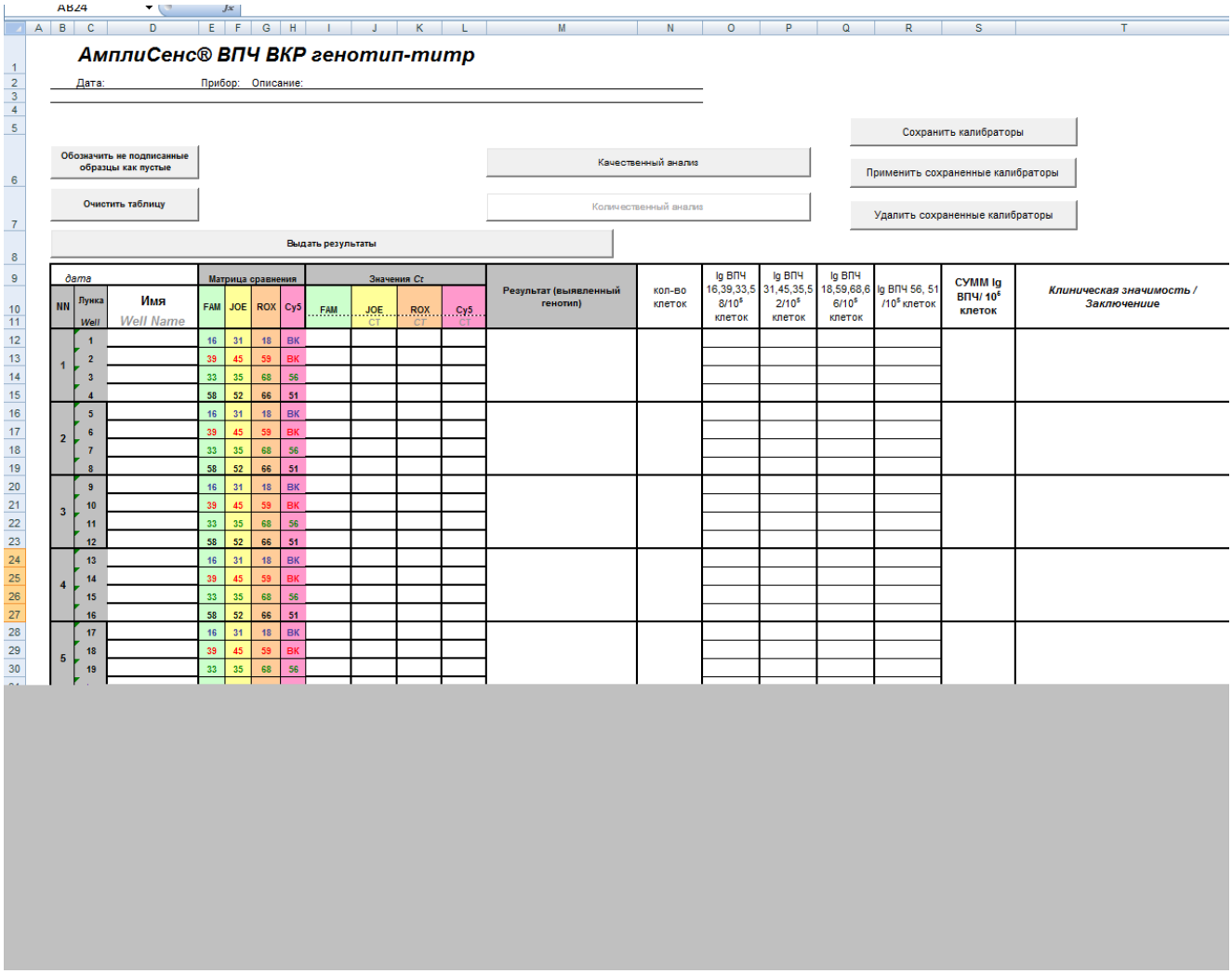
Обозначить не подписанные образцы как пустые | Качественный анализ

Очистить таблицу | Количественный анализ

Выдать результаты

дата			Матрица сравнения				Значения Ct				Результат (выявленный генотип)
NN	Лунка Well	Имя Well Name	Fam	Hex	Rox	Суб	Fam Ct	Hex Ct	Rox Ct	Суб Ct	
1	1		16	31	18	ВК					
	2		39	45	59	ВК					
	3		33	35	68	56					
	4		58	52	66	51					
2	5		16	31	18	ВК					
	6		39	45	59	ВК					
	7		33	35	68	56					
	8		58	52	66	51					
3	9		16	31	18	ВК					
	10		39	45	59	ВК					
	11		33	35	68	56					
	12		58	52	66	51					
4	13		16	31	18	ВК					
	14		39	45	59	ВК					
	15		33	35	68	56					
	16		58	52	66	51					
5	17		16	31	18	ВК					
	18		39	45	59	ВК					
	19		33	35	68	56					
	20		58	52	66	51					
6	21		16	31	18	ВК					
	22		39	45	59	ВК					
	23		33	35	68	56					
	24		58	52	66	51					
	25		16	31	18	ВК					

Качественный анализ

Готово 100%

Вкладка D h e b q _ k l \ _ g g u c Z g Z e b a отображается при нажатой кнопке D h e b q _ k l \ _ g g u c Z g Z e b a