



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Генотек»

Ильинский В.В.



«22» апреля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2
методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией
«COVID-19 OneStep»



ООО «Генотек»
Наставнический пер., д. 17, стр.1
Москва, 105120, Россия
тел./факс: +7 495 215-15-14
www.genotek.ru, info@genotek.ru

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
2. ПРИНЦИП МЕТОДА	4
3. КОМПЛЕКТНОСТЬ	4
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	5
6. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	6
7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	6
8. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ.....	8
9. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	8
10. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	8
11. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	9
12. АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	10
13. ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ	11
14. КОНТАМИНАЦИЯ	11
15. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	12
16. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	12
17. СРОК ГОДНОСТИ	12
18. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА	13
19. ОЦЕНКА ВЕРОЯТНЫХ СОБЫТИЙ.....	13
20. СВЕДЕНИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ	13
21. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ И СВЕДЕНИЯ О РЕКЛАМАЦИЯХ	14
22. СИМВОЛЫ, НАНОСИМЫЕ НА УПАКОВКУ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ	14

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДИ	- Доверительный интервал
ДНК	- Дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	- Комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ОКО	- Отрицательный контрольный образец
ОРЗ	- Острые респираторные заболевания
ОТ	- Обратная транскрипция
ПКО	- Положительный контрольный образец
ПЦР	- Полимеразная цепная реакция
РНК	- Рибонуклеиновая кислота
Ct	- Пороговый цикл

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией «COVID-19 OneStep» (далее – Набор реагентов «COVID-19 OneStep», Набор реагентов или Набор) предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ПЦР с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени» в пробах нуклеиновых кислот, выделенных из биологического материала (мазки из носоглотки и ротоглотки, мокрота), взятом у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, в особенности прибывающих из эпидемиологически неблагополучных регионов сразу после первичного осмотра, а также контактных лиц.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

ВНИМАНИЕ! Набор реагентов «COVID-19 OneStep» используется в комплексной диагностике тяжелого острого респираторного синдрома COVID-19 всех групп населения вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

Потенциальный потребитель – профессиональная квалификационная группа «Средний медицинский и фармацевтический персонал не ниже 2 квалификационного уровня и профессиональная квалификационная группа «Врачи и провизоры» всех уровней (Приказ №526 от 06.08.2007 г. «Об утверждении профессиональных квалификационных групп должностей медицинских и фармацевтических работников»).

ВНИМАНИЕ! К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

Показания к применению

Необходимость выявления РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР у пациентов с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, в особенности прибывающих из эпидемиологически неблагополучных регионов сразу после первичного осмотра, а также контактным лицам.

Противопоказания

Противопоказаний в рамках установленного производителем назначения не имеет.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Выявление коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией включает в себя три этапа: реакцию обратной транскрипции, амплификацию участка кДНК вируса SARS-CoV-2 и флуоресцентную детекцию, которая производится непосредственно в ходе ПЦР.

Реакция обратной транскрипции проводится с целью образования комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК. Затем с полученными пробами кДНК проводится реакция амплификации участков гена коронавируса SARS-CoV-2 при помощи специфичных к этому участку кДНК праймеров и фермента ДНК-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствует флуоресцентно-меченый олигонуклеотидный зонд, который гибридизуется с комплементарным участком амплифицируемой кДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического ПЦР-продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

3. КОМПЛЕКТНОСТЬ

1. Набор реагентов «COVID-19 OneStep»:

- Комплект реагентов для ОТ-ПЦР – 1 шт;
- Комплект контрольных образцов – 1 шт;
- Инструкция по применению – 1 шт;
- Вкладыш – 1 шт.

2. Паспорт качества – 1 шт.

4. СОСТАВ НАБОРА

В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов. Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Набора реагентов.

Состав Набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Состав	Объем	Количество	Описание
Комплект реагентов для ОТ-ПЦР:			
Реагент 1	1200 мкл	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Реагент 2	200 мкл	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Комплект контрольных образцов:			
ПКО	120 мкл	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ОКО	120 мкл	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению Вкладыш			

Набор реагентов рассчитан на проведение 100 реакций, включая контроли.

ВНИМАНИЕ! Не допускать более 5 циклов замораживания/ размораживания реагентов.

В состав Набора реагентов не входят реактивы для выделения нуклеиновых кислот. Выделение РНК может проводиться с помощью «Комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот

(ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009», ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, в соответствии с инструкцией производителя.

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

5.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Наименьшее число ГЭ/мл РНК коронавируса SARS-CoV-2, определяемых с помощью Набора реагентов составляет: 1×10^2 ГЭ/мл. Для достижения данного показателя рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов для экстракции РНК, допускающие отбор аликвот исходного материала объемом не менее 100 мкл, а объем элюции полученного образца РНК составляет не более 20 мкл.

5.2. Аналитическая специфичность

Неспецифических реакций с РНК штаммов коронавируса Human coronavirus 229E (ATCC RV-740), Betacoronavirus 1 OC43 (ATCC VR-1558), вируса гриппа А (H1N1) (ATCC VR-1469) и вируса гриппа В (Victoria Lineage) (ATCC VR-1930), HCoV-NL63 (ATCC VR-3263SD), MERS-CoV (ATCC VR-3248SD), S. Pneumoniae (ATCC 49619), Staphylococcus aureus (ATCC 14154), Haemophilus influenzae (ATCC 9833) из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США) в концентрации не менее 1×10^6 ГЭ/мл не отмечалось.

5.3. Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные вещества – муцин, гемоглобин, и экзогенные вещества - водный раствор хлоргексидина биглюконата для местного и наружного применения.

Для изучения влияния потенциально интерферирующих веществ на полученные результаты, испытываемым Набором реагентов были протестированы модельные образцы, содержащие и не содержащие эндогенные и экзогенный потенциально интерферирующие вещества. Модельные образцы представляли собой мазки из носоглотки и ротоглотки, образцы мокроты, не содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2, контаминированные разведением СО № 1 SARS-CoV-2 до конечной концентрации 1×10^2 ГЭ/мл, с последующим добавлением эндогенных (муцин, гемоглобин) и экзогенных (водный раствор хлоргексидина биглюконата для местного и наружного применения, 5 %) и без добавления данных веществ. Вычисляли разницу полученных средних значений порогового цикла между контрольными и испытываемыми образцами. При разнице среднего значения порогового цикла между контрольными и испытываемыми образцами менее 1,5 циклов делали вывод об отсутствии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат ОТ-ПЦР. Результаты тестирования представлены в табл.2.

Экстракцию РНК из модельных образцов и ОТ-ПЦР проводили в соответствии с Инструкцией по применению.

Таблица 2

Материал	Вид вещества	Потенциальный интерферент	Наличие интерференции
Мазки, мокрота	Эндогенные	Муцин	Не обнаружено
		Гемоглобин	Не обнаружено
	Экзогенные	Водный раствор хлоргексидина биглюконата	Не обнаружено

5.4. Воспроизводимость

Воспроизводимость результатов исследований, проводимых с использованием Набора реагентов «COVID-19 OneStep», была определена в разные дни, разными операторами, на

различных приборах и сериях испытуемого Набора путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы представляли собой разведения стандартного образца предприятия СО №1 SARS-CoV-2 с концентрацией 1×10^2 ГЭ/мл, в качестве отрицательного образца был использован ОКО.

Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Условия исследования образцов		Тип образца	
		Положительный СО №1 1×10^2 ГЭ/мл	Отрицательный контрольный образец
В одной постановке	Кол-во образцов	9	9
	Совпадение результата, %	100	100
Между сериями	Кол-во образцов	18	18
	Совпадение результата, %	100	100
Между операторами	Кол-во образцов	18	18
	Совпадение результата, %	100	100
Между приборами	Кол-во образцов	36	36
	Совпадение результата, %	100	100
Между днями	Кол-во образцов	18	18
	Совпадение результата, %	100	100

6. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Диагностическая чувствительность Набора реagensов составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 92,4% - 100%) при 38 положительных образцах.

Диагностическая специфичность Набора реagensов составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,5% - 100%) при 83 отрицательных образцах.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

7.1. Использовать только для диагностики *in vitro*.

7.2. Потенциальный риск применения Набора реagensов – класс 3.

7.3. Работу с использованием Набора реagensов осуществлять согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности, а также ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

7.4. Следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

7.5. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

7.6. Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Класс отходов определяется согласно СанПин 2.1.7.2790-10. Неиспользованные реagensы, реagensы с истекшим сроком годности, использованные реagensы, упаковку необходимо утилизировать как отходы класса «Г».

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

7.7. Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических или механических дозаторов с фильтром. Одноразовые пластиковые материалы (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

7.8. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

7.9. Лабораторное оборудование и принадлежности, которые используются при работе с Набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

7.10. Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.

7.11. Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять Набор реагентов строго по назначению.

7.12. Допускать к работе с Набором только специально обученный персонал.

7.13. Не использовать Набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

7.4. Не использовать Набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

7.15. Не использовать Набор по истечении срока годности.

7.16. Использовать одноразовые неопудренные медицинские перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

7.17. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

7.18. При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

7.19. Набор не содержит: лекарственные средства для медицинского применения, материалы человеческого и животного происхождения, материалы, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

7.20. Воздействие на функционирование внешних факторов в диапазоне их возможного изменения при применении Набора в медицинских учреждениях - не существенно, включая электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температуру воздуха.

7.21. Применение Набора не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.

7.22. Применение Набора не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав материала не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

8. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

- 8.1. Набор регентов «COVID-19 OneStep» должен применяться согласно инструкции по применению, утвержденной в установленном порядке.
- 8.2. Набор предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами, обученными методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).
- 8.3. Исследования с использованием Набора проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.
- 8.4. Набор должен использоваться при температуре от 15 до 28 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %.
- 8.5. Набор не имеет принадлежностей, медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, но предусмотренных для использования в комбинации с Набором.
- 8.6. Набор не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.
- 8.7. Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

9. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- 9.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
- Завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, «Ахуген», США или аналогичные) для приготовления реакционной смеси.
 - Тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками (например, «Ахуген», США или аналогичные).
 - Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл (например, «Ахуген», США или аналогичные).
- 9.2. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов) (например, «Ахуген», США или аналогичные).
- 9.3. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия или аналогичный).
- 9.4. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия или аналогичный).
- 9.5. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия, BIONIT «Sartorius Biohit Liquid Handling Oy», Финляндия или аналогичный).
- 9.6. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» ДТпрайм (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, ФСР 2011/10229).
- 9.7. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
- 9.8. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
- 9.9. Емкость для сброса наконечников.

10. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования является РНК, экстрагированная из проб биологического материала (мазки из носоглотки и ротоглотки, мокрота), полученного от пациентов с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2.

Забор, пробоподготовка биологического материала и экстракция РНК могут проводиться с помощью «Комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-

ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009», ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, в соответствии с инструкцией производителя.

Обработанную мокроту допускается хранить в контейнере в течение суток при температуре от 2°C до 8°C или длительно при температуре не выше минус 16°C (в случае необходимости повторного выделения РНК/ДНК).

Мазки из носоглотки и ротоглотки хранить до начала исследования следует при температуре от 2°C до 8°C не более 24 часов. Допускается хранить полученный материал при температуре от минус 18°C до минус 22°C не более 3 месяцев.

Полученный препарат РНК необходимо сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции. Препарат РНК не подлежит хранению.

11. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Во избежание контаминации используйте только одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

- Промаркировать необходимое количество пластиковых пробирок объемом 0,2 мл с учётом пробирки для Отрицательного контрольного образца (ОКО) и Положительного контрольного образца (ПКО).

- Разморозить содержимое пробирок «Реагент 1», «Реагент 2» из Комплекта реагентов для обратной транскрипции при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C), затем встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с и осадите капли.

- В отдельной пробирке приготовить ОТ-ПЦР смесь путём смешивания содержимого пробирок «Реагент 1» и «Реагент 2». Если вы анализируете N образцов, один положительный контрольный образец и один отрицательный контрольный образец, то смешайте реагенты в следующих пропорциях:

$(N + 3) * 9$ мкл раствора 1

$(N + 3) * 1$ мкл раствора 2

Пример: Если вы анализируете 6 образцов, то смешайте:

- 81 мкл раствора 1
- 9 мкл раствора 2

ВНИМАНИЕ! Раствор 1 и 2 необходимо держать вне морозильной камеры как можно меньше.

- Перемешать содержимое пробирки с приготовленной ОТ-ПЦР смесью на вортексе и осадите капли.

- Внести по 10 мкл ОТ-ПЦР смеси во все промаркированные пробирки.

- Внести в пробирки с ОТ-ПЦР смесью (кроме пробирок с отрицательным и положительным контролем) по 10 мкл соответствующего образца РНК (отдельным наконечником из каждой пробирки).

- В пробирку с отрицательным контролем внести 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.

- В пробирку с положительным контролем внесите 10 мкл положительного контрольного образца.

- Встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 с и осадить капли.

- Для проведения амплификации запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» на выполнение соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала согласно Вкладышу к Набору реагентов.

- Установить пробирки в блок детектирующего амплификатора.

ВНИМАНИЕ! В случае неполной загрузки приборов (планшетный тип) рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки или стрипы (аналогичные используемым) по краям блока детектирующего амплификатора.

- Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
- По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

12. АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных данных проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 2 каналам: FAM и HEX.

В биологических образцах, содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, и в Положительном контрольном образце (ПКО) детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM и HEX.

В биологических образцах, не содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, и в Отрицательном контрольном образце (ОКО) детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу HEX (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM отсутствует.

Результат оценивается как недостоверный (нд) в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для внутреннего контрольного образца (по каналу HEX).

Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в образце РНК, полученном из клинического материала, неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации образца РНК, либо повторное выделение РНК из биологического материала, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

При отсутствии положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM) в Положительном контрольном образце (ПКО), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всего пула образцов.

При получении положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM) в Отрицательном контрольном образце (ОКО), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

Результаты амплификации интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы РНК значения порогового цикла (Ct) в соответствующей графе таблицы результатов.

Таблица 5

Канал детекции		Результат	Интерпретация результата
FAM	HEX		
Анализируемые образцы			
Ct от X до Y	Ct от X до Y	Положительный	Обнаружена РНК коронавируса штамма SARS-CoV-2
Ct > Y	Ct от X до Y	Отрицательный	РНК коронавируса штамма SARS-CoV-2

			не обнаружена
$Ct < X$	Ct от X до Y	Недостоверный	Результат данного образца не подлежат учету, требуется повторить анализ с этапа выделения РНК
Ct от X до Y	$Ct < X$ или $> Y$	Недостоверный	Результат данного образца не подлежат учету, требуется повторить анализ с этапа выделения РНК
ПКО			
Ct от X до Y	Ct от X до Y	Положительный	Результат прохождения ПКО валиден
$Ct < X$ или $Ct > Y$	Ct любой	Недостоверный	Результаты всех образцов в данной постановке не подлежат учету
ОКО			
$Ct > Y$	Ct от X до Y	Отрицательный	Результат прохождения ОКО валиден
$Ct < Y$	Ct любой	Недостоверный	Результаты всех образцов в данной постановке не подлежат учету

ВНИМАНИЕ! Значения пороговых циклов (Ct) X и Y указаны во вкладыше к набору реагентов.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контрольных образцов в соответствии с табл. 5 и вкладышем, прилагаемым к Набору реагентов.

13. ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Для Отрицательного контрольного образца ОТ-ПЦР определено значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора FAM. 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.

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

14. КОНТАМИНАЦИЯ

РНК коронавируса SARS-CoV-2 не должна выявляться в отрицательном контроле. Присутствие РНК коронавируса SARS-CoV-2 в отрицательном контроле указывает на контаминацию другими образцами или ранее амплифицированным продуктом, произошедшую во время приготовления образцов или во время подготовки к проведению исследования.

Для того чтобы избежать контаминации, необходимо произвести полную обработку лаборатории в соответствии с МУ-1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», затем повторно провести анализ.

15. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества Набора при изготовлении осуществляет ОБТК предприятия-изготовителя согласно ТУ 21.20.23-001-69703904-2020.

16. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Информация, об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) данного Набора.

16.1. Условия транспортировки

Набор реагентов транспортировать при температуре не выше минус 20°С. Транспортирование Набора реагентов производится всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при соблюдении температурного режима.

Транспортирование изделий при температурах, требующих соблюдения «Холодовой цепи», обеспечивающей сохранность температурного режима, должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

Наборы, транспортировавшиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

16.2. Условия хранения.

Набор реагентов хранить при температуре от минус 16 до минус 24°С в течение всего срока годности.

Во избежание возможной кросс-контаминации Реагенты для амплификации хранить отдельно от Контрольных образцов.

Хранение изделий при температуре от минус 16 до минус 24°С должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

17. СРОК ГОДНОСТИ

17.1. Срок годности Набора реагентов составляет 12 месяцев с даты производства Набора¹. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

17.2. Срок годности вскрытых реагентов Набора соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, при условии соблюдения ограничения не допускать более 5 циклов замораживания/ размораживания реагентов.

17.3. Условия отпуска.

Для лечебно-профилактических и санитарно-противоэпидемических учреждений.

¹ Данные установлены на основании ускоренной оценки стабильности. Установленный срок годности Набора реагентов «COVID-19 OneStep» будет подтвержден производителем в ходе испытаний стабильности медицинского изделия в режиме реального времени.

18. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

18.1. ТОЛЬКО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO.

18.2. Результаты анализа с использованием Набора реагентов должны интерпретироваться в сочетании с данными клинического обследования, эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований в составе комплексной диагностики острого респираторного синдрома COVID-19.

18.3. Отрицательные результаты не исключают возможность инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов. Отрицательные результаты должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией. Набор реагентов не определяет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация ниже заявленной аналитической чувствительности, описанной в п. 5.1.

18.4. В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов. Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Набора реагентов.

18.5. Не допускать более 5 циклов замораживания/ размораживания реагентов.

18.6. Набор реагентов предназначен для использования персоналом клинической лаборатории, специально обученным методам ПЦР в реальном времени.

19. ОЦЕНКА ВЕРОЯТНЫХ СОБЫТИЙ

19.1. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор безопасен. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

Специфические воздействия Набора реагентов на организм человека:

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

19.2. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для окружающей среды.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор реагентов безопасен, не является источником загрязнения окружающей среды. Материалы, из которых изготовлены Наборы, не обладают способностью образовывать токсичные соединения в воздушной среде и сточных водах в присутствии других веществ при температуре окружающей среды.

Потенциальная возможность возгорания или взрыва при использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности отсутствует.

20. СВЕДЕНИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

ООО «Генотек»

105120, Россия, Москва, Наставнический пер., д. 17, стр.1

тел./факс: +7 495 215-15-14

www.genotek.ru, info@genotek.ru

21. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ И СВЕДЕНИЯ О РЕКЛАМАЦИЯХ

ООО «Генотек» гарантирует стабильность Наборов, соответствие основных параметров и характеристик Наборов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации на протяжении всего срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов, а также в случае изменения аналитических характеристик следует обращаться к производителю: ООО «Генотек», 105120, Россия, Москва, Наставнический пер., д. 17, стр.1, тел./факс: +7 495 215-15-14, www.genotek.ru, info@genotek.ru.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению Набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации Набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

22. СИМВОЛЫ, НАНОСИМЫЕ НА УПАКОВКУ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ



Код партии



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Дата изменения



Использовать до



Температурный диапазон



Обратитесь к инструкции по применению



Изготовитель



Не допускать воздействия солнечного света



Дата изготовления

Зам. главного врача по науке
ФГБУЗ ЦКБ РАН, д.м.н.

Алехин А.И.

Зав.отд. КДЛ ЦКБ РАН

Алешенко Н.Л.

« 27 » _____ апреля 2020г.

Всего прошито, пронумеровано
и скреплено печатью

14 (четырнадцать) листа
цифрами прописью

Генеральный директор ООО «Генотек»
Ильинский В.В. Ильинский В.В.

«22» апреля 2020 г.

