

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Система-БиоТех»



Позднякова Н. В.

подпись

«21» июля 2020 г.

дата подписи

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2,
вызывающего тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале
методом петлевой изотермической амплификации
«SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR»

Партия 350-204

Регистрационное удостоверение № _____

1. ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусы (*Coronaviridae*) – это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать человека и некоторых животных. У людей коронавирусы могут вызвать целый ряд заболеваний – от легких форм острой респираторной инфекции до тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). В настоящее время известно о циркуляции среди населения четырех коронавирусов (HCoV-229E, -OC43, -NL63 и -HKU1), которые круглогодично присутствуют в структуре ОРВИ, и, как правило, вызывают поражение верхних дыхательных путей легкой и средней степени тяжести.

До 2002 года коронавирусы рассматривались в качестве агентов, вызывающих нетяжелые заболевания верхних дыхательных путей (с крайне редкими летальными исходами). В конце 2002 года появился коронавирус (SARS-CoV), возбудитель атипичной пневмонии, который вызывал ТОРС у людей. В 2012 году мир столкнулся с не менее опасным новым коронавирусом MERS (MERS-CoV), возбудителем ближневосточного респираторного синдрома, также принадлежащему к роду Betacoronavirus.

Новый коронавирус SARS-CoV-2 представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус, относится к семейству *Coronaviridae*, относится к линии Beta-CoV B. Вирус отнесен ко II группе патогенности, как и некоторые другие представители этого семейства (вирус SARS-CoV, MERS-CoV).

С декабря 2019 г. по март 2020 г. наиболее широкое распространение SARS-CoV-2 получил на территории Китайской Народной Республики (КНР), где подтвержденные случаи заболевания были зарегистрированы во всех административных образованиях. Наибольшее количество заболевших выявлено в Юго-Восточной части КНР с эпицентром в провинции Хубэй. 11 марта 2020 года ВОЗ объявила, что вспышка приобрела характер пандемии.

Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями. Ведущим путем передачи SARS-CoV-2 является воздушно-капельный, который реализуется при кашле, чихании и разговоре на близком (менее 2 метров) расстоянии. Контактный путь передачи осуществляется во время рукопожатий и других видах непосредственного контакта с инфицированным человеком, а также через пищевые продукты, поверхности и предметы, контаминированные вирусом. Известно, что при комнатной температуре SARS-CoV-2 способен сохранять жизнеспособность на различных объектах окружающей среды в течение 3 суток.

SARS-CoV-2 включен в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих (Постановление Правительства РФ от 31 января 2020 г. № 66).

2. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале методом петлевой изотермической амплификации «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR» (далее по тексту – Набор реагентов или Набор), предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 непосредственно в смывах назофарингеальных и/или орофарингеальных мазков методом петлевой изотермической амплификации. Кроме того, можно вносить в реакционную смесь препараты РНК, полученные с помощью наборов и комплектов, зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации, таких как: «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (ПУ № ФСР 2008/03147 от 22.02.2019 г.)

Целевым анализом является РНК вируса SARS-CoV-2.

Функциональное назначение: вспомогательное средство в диагностике *in vitro* (выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2).

Полученные результаты не являются основанием для постановки диагноза, а используются только в сочетании с другими лабораторными показателями и диагностической информацией.

Применение Набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Специфическая патология – коронавирусное заболевание COVID-19, вызванное вирусом SARS-CoV-2.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Предназначенный пользователь – медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»).

Показания к применению:

Набор реагентов используется для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 у лиц всех возрастов с симптомами ОРВИ либо контактировавших с заболевшим COVID-19, а также у лиц всех возрастов без признаков ОРВИ (в очагах инфекции/ в условиях распространения инфекции) с целью раннего выявления коронавируса для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

Противопоказания:

Противопоказаний в рамках установленного производителем назначения не имеет.

Сокращенное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro* – «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR».

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Широко распространенным способом определения наличия или отсутствия инфекционных агентов в биологических образцах человека является специфическая амплификация генетического материала возбудителя инфекции. Петлевая изотермическая амплификация – это метод амплификации нуклеиновых кислот, представляющий собой альтернативу часто используемому методу полимеразной цепной реакции (ПЦР). Принципиальную основу метода составляет способность ДНК-полимеразы I из термофильной бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (ДНК-полимераза *Bst*) катализировать реакцию синтеза нуклеиновых кислот с вытеснением цепи. Это исключает необходимость в периодическом повышении температуры реакции для разделения цепей нуклеиновых кислот, как в методе ПЦР. Таким образом, реакция проводится при постоянной температуре и может быть выполнена в обычном термостате вместо амплификатора.

Отличительными особенностями петлевой изотермической амплификации является проведение реакции при постоянной температуре 60 – 65 °С, быстрое накопление продуктов реакции (15 – 60 мин), возможность совмещения реакции с обратной транскрипцией, низкая чувствительность к примесям.

Благодаря этому становится возможным совместить лизис биологического образца, инактивацию вируса, выделение вирусной РНК и амплификацию ее целевого участка в одной реакционной смеси. В реакционную смесь в составе Набора входит детергент Triton X-100, для которого была показана способность в сочетании с нагреванием при температуре, типичной для петлевой изотермической амплификации, инактивировать вирусы, включая такие опасные, как вирусы геморрагических лихорадок (например, вирус Эбола). Такая обработка рекомендована Центрами по контролю и профилактике заболеваний США для образцов, полученных от пациентов с подозрением на вирусную геморрагическую лихорадку¹. Более того, была также продемонстрирована способность

¹http://www.cdc.gov/HAI/pdfs/bbp/VHFinterimGuidance05_19_05.pdf

взятой отдельно от нагревания 30-минутной инкубации образца с детергентом Triton X-100 при комнатной температуре^{2 3} или прогревания при 65 °С (температура, используемая настоящим Набором) в течение 10 минут без детергента⁴ убивать коронавирусы (SARS-CoV-2 и SARS-CoV) достаточно эффективно, чтобы способные к инфицированию вирусные частицы было невозможно обнаружить в образце. Настоящий Набор использует высокую концентрацию детергента Triton X-100 в реакционной смеси, благодаря чему реакционная смесь сопоставима по способности инактивировать вирус с использованными в указанных работах растворами или превосходит их.

Особенностью Набора является то, что не обязательна отдельная стадия экстракции РНК из анализируемых образцов, т. к. выделение РНК из вирусных частиц происходит непосредственно в реакционной смеси под действием тепла (благодаря тепловой денатурации белков вирусной частицы) и детергента Triton X-100.

Однако экстракция РНК из образцов возможна и в этом случае должна проводиться в соответствии с инструкцией по применению комплектов/наборов для выделения РНК, зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации, таких как: «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (ПУ № ФСР 2008/03147 от 22.02.2019 г.), после чего полученные препараты РНК анализируются с использованием Набора.

При амплификации нуклеиновых кислот происходит включение нуклеотидов в цепи нуклеиновых кислот, что приводит к накоплению протонов в реакционной жидкости (закислению реакционной жидкости). Это детектируется индикатором pH, включенным в состав компонента Набора «РС», что позволяет оценивать амплификацию визуально.

Положительный результат теста (реакционная жидкость меняет цвет) означает, что исследуемый материал содержит РНК коронавируса SARS-CoV-2. Отрицательный результат теста (реакционная жидкость не меняет цвет) означает, что исследуемый материал не содержит РНК вируса SARS-CoV-2.

Для контроля анализа в Наборе реагентов предусмотрены контрольные образцы: положительный контрольный образец «К+» и отрицательный контрольный образец «К-».

4. КОМПЛЕКТНОСТЬ И ФОРМЫ ВЫПУСКА

4.1. Комплектность:

- Набор реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR» - 1 шт.;
- Паспорт качества – 1 шт.

4.2. Форма выпуска:

Форма выпуска предназначена для детекции РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом петлевой изотермической амплификации с визуальной оценкой результата. Компоненты тест-системы расфасованы в пластиковые пробирки соответствующего объема. На пробирки с компонентами наклеены этикетки с указанием наименования компонента и его объема в пробирке.

5. СОСТАВ

5.1. В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR». Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Набора реагентов.

Состав Набора реагентов представлен в таблице 1.

² Public Health England. SARS-CoV-2 inactivation testing: interim report. 12 June 2020.

³ Patterson EI et al. Methods of inactivation of SARS-CoV-2 for downstream biological assays. bioRxiv. 2020.

⁴ Darnell ME, Taylor DR. Evaluation of inactivation methods for severe acute respiratory syndrome coronavirus in noncellular blood products. Transfusion. 2006 Oct; 46(10): 1770–1777.

Таблица 1 – Комплектность Набора реагентов

Наименование компонента	Количество
«К+» – положительный контроль – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (0,02 мл)
«К-» – отрицательный контроль – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (0,04 мл)
«РС» – реакционная смесь – прозрачная розовая жидкость.	2 пробирки (0,9 мл)
«Праймеры» – смесь праймеров – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (0,25 мл)

Инструкция по применению входит в состав Набора реагентов и поставляется с каждой единицей продукции.

Все компоненты Набора готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Контрольные образцы «К+» и «К-» используются для контроля проведения реакции петлевой изотермической амплификации при исследовании на выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 в анализируемых образцах.

«К-» (Отрицательный контроль) представляет собой воду, свободную от нуклеаз и нуклеиновых кислот.

«К+» (Положительный контроль) представляет собой раствор, содержащий продукты амплификации целевой последовательности генома коронавируса SARS-CoV-2, которые могут быть далее амплифицированы в реакции петлевой изотермической амплификации (LAMP).

«РС» (Реакционная смесь) представляет собой смесь специфических к геномной последовательности олигонуклеотидов коронавируса SARS-CoV-2 в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Праймеры» (Смесь праймеров) представляют собой смесь праймеров, специфичных к геному коронавируса SARS-CoV-2.

5.2. Число анализируемых проб.

Набор реагентов предназначен для одноразового применения и рассчитан на 100 реакций, включая контрольные.

6. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

6.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) по отношению к вирусу SARS-CoV-2

Таблица 2 – аналитическая чувствительность Набора

Набор для выделения РНК	Концентрация возбудителя ⁵⁾ , ГЭ/мл	Аналитическая чувствительность при указанной концентрации возбудителя
РИБО-преп	10 ⁵	100 %
Не использовался, в реакционную смесь вносились непосредственно вирусные частицы	10 ⁴	50 %

6.2. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность измерялась при анализе образцов нуклеиновых кислот следующих микроорганизмов:

- Вирус гриппа А (Influenza A virus (H1N1))
- Вирус гриппа А (Influenza A virus (H3N2))
- Вирус гриппа А (Influenza A virus (H7N9))
- Вирус гриппа В (Influenza B virus)
- Аденовирус человека А-5 (штамм Adeno-5)
- Метопневмовирус человека (вирулентный штамм "НМ-1")
- Коронавирус (штамм Р/Ленинград/2/77) (коронавирус, не вызывающий COVID-19)
- Вирус парагриппа 1 типа (штамм "Сендай Биомед")
- Streptococcus pneumoniae
- Haemophilus influenzae.

Неспецифических реакций не наблюдалось. Таким образом, аналитическая специфичность, рассчитанная как доля образцов, не содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, правильно идентифицированных как образцы, не содержащие РНК вируса SARS-CoV-2, составляет 100 %.

Для исследования аналитической специфичности Набора реагентов использовали препараты нуклеиновых кислот, полученные из охарактеризованных музейных штаммов с биологической активностью не менее 1,0x10⁵ КОЕ/мл (для бактерий) и 1,0x10⁵ БОЕ на мл (для вирусов).

⁵⁾ Чувствительность выражается в геномных эквивалентах (ГЭ) возбудителя в 1 мл пробы.

7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическую чувствительность определяли при исследовании 36 образцов препаратов РНК, выделенных из мазков из носо- и ротоглотки, полученных от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19. Диагностическая чувствительность Набора реагентов составила 80,6 % (95 % ДИ: 70,3-83,2 %).

Диагностическую специфичность определяли при исследовании 36 образцов мазков из носо- и ротоглотки от пациентов, отрицательных на SARS-CoV-2. Диагностическая специфичность Набора реагентов составила 97,2 % (95 % ДИ: 87-99,9 %).

8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

8.1. Использовать только для диагностики *in vitro*.

8.2. Потенциальный риск применения Набора реагентов – класс 3.

8.3. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением требований, изложенных в методических указаниях МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

8.4. Исследования по выявлению в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней, относящихся ко II группе патогенности, должно проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» и СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». При работе необходимо всегда выполнять следующие требования: рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные; инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала в соответствии с методическими указаниями МУ 1.3.2569-09. Это достигается тем, что в настоящем Наборе лизис биологического образца, инактивацию вируса, выделение вирусной РНК и амплификация ее целевого участка совмещены в одной реакционной смеси. В реакционную смесь, входящую в состав Набора, входит детергент Triton X-100, для которого была показана способность в сочетании с нагреванием при температуре, типичной для петлевой изотермической амплификации, инактивировать вирусы. Такая обработка рекомендована Центрами по контролю и профилактике заболеваний США для образцов, полученных от пациентов с подозрением на вирусную геморрагическую лихорадку, показана также ее высокая эффективность против коронавирусов (см. раздел 3). Выделение РНК из инактивированных вирусных частиц происходит непосредственно в реакционной смеси под действием тепла (благодаря тепловой денатурации белков вирусной частицы) и детергента Triton X-100.

8.5. Необходимо одновременно обеспечить как соблюдение персоналом правил биологической безопасности, так и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб, помещений и оборудования.

8.6. При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- Лабораторный процесс должен быть однопоточным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). В случае использования экстрагированной РНК работу следует начинать в Зоне экстракции, продолжать в Зоне амплификации и детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.279010 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

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

8.8. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

8.9. 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 реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку необходимо утилизировать как отходы класса «Г».

8.10. При каждой операции необходимо использовать и менять одноразовые наконечники с фильтром для автоматических дозаторов. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

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

8.12. Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

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

8.14. К работе с Набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»).

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

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

8.17. Не использовать Набор по истечении срока годности.

8.18. Использовать одноразовые неопудренные 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.

8.19. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

8.20. 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.

8.21. 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 сенсibilизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

8.22. 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.

8.23. 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.

8.24. 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.

9. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

9.1. Набор реагентов должен применяться согласно инструкции по применению, утвержденной в установленном порядке.

9.2. Набор предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами, обученными методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»).

9.3. Набор должен использоваться при температуре от 15 до 28 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %.

9.4. Набор не имеет принадлежностей, медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, но предусмотренных для использования в комбинации с Набором.

9.5. Набор не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.

9.6. Набор не подлежит калибровке, техническому обслуживанию и ремонту.

10. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Зонд/тампон для взятия мазков из носоглотки и/или ротоглотки (материал - хлопок или лавсан).

Физиологический раствор (0,9%-ный раствор хлорида натрия).

Бокс с бактерицидной лампой (например, БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный), установленный в рабочей зоне 3 (МУ 1.3.2569-09).

Набор электронных или механических дозаторов (пипеток) переменного объема (например, «Ленпипет», Россия, или аналогичный).

Твердотельный термостат (например, «Гном», Россия, или аналогичный) с гнездами для пробирок объемом от 0,5 до 1,5 мл.

Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом от 0,5 до 1,5 мл, в соответствии с размером гнезд термостата (например, «Ахуген», США или аналогичные). (Используются в ходе анализа для проведения реакции петлевой изотермической амплификации).

ВНИМАНИЕ! При работе с Набором реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с Набором реагентов и анализируемыми образцами использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером.

Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом не менее 1,5 мл (например, «Ахуген», США или аналогичные). (Используются в ходе анализа для смыва биологического материала с зонда/тампона).

Штативы для пробирок объемом от 0,5 до 1,5 мл, в соответствии с размером гнезд термостата (например, «Ахуген», США, или аналогичные).

Штатив изотермический (например, Isofreeze®, США, или аналогичный), или лед и емкость для льда.

Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром от 1 до 200 мкл (например, «Ахуген», США или аналогичные).

Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 25 до минус 15°С.

Костюм для лабораторного персонала и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09. Выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СП 1.3.1285—03 и (или) СП 1.3.2322—08 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Емкость для сброса наконечников.

Дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов, потенциально содержащих вирус SARS-CoV-2.

11. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

11.1. Тип биологического материала. Биологическим материалом для исследования являются мазки из носоглотки и/или ротоглотки.

11.2. Процедура получения, обработки биологического материала и выделения РНК.

Набор не требует отдельной процедуры выделения РНК для исследования. Для подготовки образца к анализу в пробирку с 500 мкл физиологического раствора (0,9%-ный раствор хлорида натрия) внести мазок из носоглотки и/или ротоглотки, энергичными вращательными движениями обеспечить отделение биологического материала от зонда/тампона в раствор, стараясь не допустить разбрызгивания потенциально зараженной жидкости, после чего зонд/тампон дезактивировать, рассматривая его как инфекционно-опасный, в соответствии с МУ 1.3.2569-09. В случае взятия назофарингеального и орофарингеального мазка от одного пациента биологический материал с обоих зондов/тампонов следует смывать в одной и той же пробирке для увеличения вирусной нагрузки. Образцы хранят в холодильнике при температуре (2-8) °С и транспортируют с соблюдением «холодовой цепи». Транспортной средой/средой для хранения образца при этом является физиологический раствор, в котором производился смыв.

Кроме того, Набор совместим с использованием в качестве образцов препаратов экстрагированной РНК. При этом выделение РНК может проводиться с помощью наборов и комплектов, зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации, таких как: «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (ПУ № ФСР 2008/03147 от 22.02.2019 г.)

11.3. Материалом для исследования с помощью Набора реагентов является РНК, содержащаяся в пробах биологического материала, зараженного или подозрительного на зараженность коронавирусом SARS-CoV-2. **Целевым аналитом является РНК** коронавируса SARS-CoV-2.

12. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Анализ проводят в рабочей зоне 3, не подразумевающей контакта с биоматериалом (МУ 1.3.2569-09).

ВНИМАНИЕ!!! При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

Каждый образец рекомендуется анализировать в двух повторах.

Необходимо в каждом запуске теста анализировать положительный и отрицательные контрольные образцы «К+» и «К-».

Для проведения анализа используют твердотельный термостат, позволяющий нагревать образцы до 65 °С, и микропробирки объемом от 0,5 до 1,5 мл, подходящие к гнездам термостата.

Компоненты Набора реагентов разморозить и тщательно перемешать (аккуратно переворачивая закрытые пробирки, пипетированием или с помощью вортекс-миксера. Если на стенках пробирок после этого остались капли, осадить их в микроцентрифуге). Во время работы с реагентами следует обеспечить их охлаждение путем помещения их на лед, хладоэлемент (аккумулятор холода) или в охлажденный штатив (например, штатив изотермический Isofreeze®). Для охлаждения «РС» настоятельно рекомендуется использовать штатив изотермический или хладоэлемент, охлажденный при -20 °С (пробирку помещают в штатив или на блок хладоэлемента).

Подготовить микропробирки в количестве $n+3$, где n – число образцов, которые нужно исследовать (три пробирки используют в качестве контрольных). **Поставить их охлаждаться** в изотермический штатив, предварительно охлажденный при -20 °С (предпочтительно), или в лед. Поставить в изотермический штатив или лед еще одну пробирку для смешивания «РС» и «Праймеров».

Подготовить **на холоде (в изотермическом штативе или во льду)** смесь «РС» и «Праймеров» из расчета, что на анализ одного образца расходуется 15 мкл «РС» и 2 мкл «Праймеров», с запасом 10 %, необходимым, чтобы нивелировать погрешности пипеток (см. таблицу 2). Размешать смесь наконечником пипетки, надетым на пипетку. **Внимание!** На этом этапе и на протяжении всего теста следует использовать дозаторы (пипетки), диапазон объемов которых, заявленный производителем, соответствует объемам, указанным в настоящей инструкции. **ВНИМАНИЕ! Необходимо менять наконечники пипеток между разными реагентами и разными образцами.**

ВНИМАНИЕ! Сразу же использовать полученную смесь! Не хранить смесь «РС» и «Праймеров»!

Таблица 2 – Подготовка смеси «РС» и «Праймеров» на 20 образцов, включая контрольные. При необходимости анализа, например, 30 образцов, все объемы из таблицы умножаются на 1,5, и т. д. **ВНИМАНИЕ! Смешивать компоненты в охлажденном изотермическом штативе или на льду!**

Компонент	Объем
«РС»	330 мкл
«Праймеры»	44 мкл

Внести по 17 мкл смеси «РС» и «Праймеров» в каждую микропробирку. Добавить анализируемые образцы, «К-» и «К+» по таблице 3. После добавления этих компонентов размешивать смесь в каждой пробирке наконечником пипетки, не снимая его с пипетки.

Таблица 3 – Схема постановки реакции в тестовых и контрольных микропробирках.
ВНИМАНИЕ! Смешивать компоненты в охлажденном изотермическом штативе или на льду!

Компонент	Тестовая пробирка (взять необходимое число пробирок и проводить реакцию в каждой)	Колориметрический стандарт	Отрицательный контроль	Положительный контроль
«РС»*	15 мкл	15 мкл	15 мкл	15 мкл
«Праймеры»*	2 мкл	-	2 мкл	2 мкл
Образец	3 мкл	-	-	-
«К-»	-	3 мкл	3 мкл	-
«К+»	-	-	-	3 мкл
Суммарный объем	20 мкл	18 мкл**	20 мкл	20 мкл
Цвет до реакции	Розовый	Розовый	Розовый	Розовый
Каким должен быть цвет после реакции	Если в образце есть РНК вируса SARS-CoV-2: светло-розовый или соломенный. Если в образце отсутствует РНК вируса SARS-CoV-2: розовый.	Розовый	Розовый	Светло-розовый или соломенный

*Можно подготовить на холоде и сразу же использовать смесь «РС» и «Праймеров» для всех пробирок сразу, как описано выше в тексте.

**Несмотря на то, что розовая «РС» в этой пробирке оказывается менее разведенной, чем в остальных, до прохождения реакции цвет жидкости во всех пробирках визуально воспринимается как приблизительно одинаковый, т. е. это не влияет на анализ результатов. В конце тестовой процедуры в случае прохождения реакции в тестовой пробирке с положительным результатом (или в случае должным образом прошедшей реакции с «К+») цвет жидкости в данной пробирке и в колориметрическом стандарте является разным. В случае прохождения реакции в тестовой пробирке с отрицательным результатом (или в случае должным образом прошедшей реакции с «К-») цвет жидкости в данной пробирке и в колориметрическом стандарте визуально воспринимается как приблизительно одинаковый.

Микропробирки поместить в твердотельный термостат, предварительно нагретый до 65 °С: именно это значение должно отображаться на дисплее термостата, если термостат имеет опцию отображения реальной температуры в своих гнездах.

Через 25 мин достать все микропробирки из термостата, включая колориметрический стандарт, дать им остыть до комнатной температуры на столе (в течение 2-3 мин) и визуально оценить цвет жидкости на белом фоне, сравнивая с колориметрическим стандартом.

Чрезвычайно важно инкубировать микропробирки в термостате не дольше указанного времени! Со временем в пробирках могут накапливаться неспецифические продукты амплификации, что может привести к ложноположительному результату.

13. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Жидкость в пробирке «колориметрический стандарт» остается розового цвета, и с ней сравнивают цвет жидкости в остальных пробирках.

Изменившийся, светло-розовый или соломенный, цвет жидкости означает положительный результат теста (наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2) для исследуемого образца. Розовый цвет жидкости означает отрицательный результат теста (отсутствие РНК коронавируса SARS-CoV-2) для исследуемого образца. Результаты анализа партии образцов являются валидными только в том случае, если жидкость в пробирке, куда вместо физиологического раствора с образцом был добавлен «К+», стала светло-розовой или соломенной, а жидкость в пробирке, куда вместо физиологического раствора с образцом был добавлен «К-», осталась розовой.

Если жидкость в пробирке, куда вместо физиологического раствора с образцом был добавлен «К+», осталась розовой, это означает, что реакция петлевой изотермической амплификации в данной партии образцов не прошла, что угрожает получением ложноотрицательных результатов, поэтому результаты анализа данной партии образцов считаются недостоверными.

Если жидкость в пробирке, куда вместо физиологического раствора с образцом был добавлен «К-», стала светло-розовой или соломенной, это означает контаминацию реактивов, расходных материалов или рабочего места нуклеиновыми кислотами с последовательностью нуклеотидов, характерной для коронавируса SARS-CoV-2, что угрожает получением ложноположительных результатов, поэтому результаты анализа данной партии образцов считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, можно учитывать как отрицательные.

14. КОНТАМИНАЦИЯ

РНК коронавируса SARS-CoV-2 не должна выявляться в отрицательном контроле «К-». Обнаружение последовательности нуклеотидов, характерной для коронавируса SARS-CoV-2, в отрицательном контроле указывает на контаминацию другими образцами или ранее амплифицированным продуктом, произошедшую 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 отдел контроля качества предприятия-изготовителя согласно ТУ 21.20.23-002-16139243-2020.

16. ОЦЕНКА ВЕРОЯТНЫХ СОБЫТИЙ

16.1. 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.

16.2. 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.

17. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

17.1. Только для диагностики *in vitro*.

17.2. В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR». Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Наборов реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 FAST COLOR».

17.3. Набор реагентов не выявляет наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация в анализируемом образце ниже заявленной (см. раздел 6) аналитической чувствительности.

17.4. Для определения наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2, рекомендуется использовать назофарингеальные и/или орофарингеальные мазки, так как РНК коронавируса SARS-CoV-2 может не выявляться в других клинических образцах.

18. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

18.1. Отрицательные результаты не исключают возможности инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.

18.2. Отрицательные результаты должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

19. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

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

19.1. Условия транспортирования

Транспортирование Набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от минус 25°C до минус 15°C.

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.

19.2. Условия хранения

Хранить Набор реагентов в сухом, защищенном от света месте при температуре от минус 25°C до минус 15°C в течение всего срока годности.

Хранение Наборов при указанной температуре должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

20. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности Набора реагентов составляет 12 месяцев* с даты выпуска предприятием-изготовителем.

*Примечание: данные не подтверждены исследованиями в реальном времени.

Исследование стабильности Набора реагентов в реальном времени продолжается.

Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

21. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ И СВЕДЕНИЯ О РЕКЛАМАЦИЯХ

ООО «Система-БиоТех» гарантирует стабильность Наборов реагентов, 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 «Система-БиоТех», 119034, Москва, Москва, Гагаринский переулок, д. 29, пом. 1, тел./факс: +7 (916) 4413895, info@sistemabiotech.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, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ



Код партии



Медицинское
изделие для диагностики
in vitro



Изготовитель



Дата изготовления



Температурный
диапазон



Запрет на
повторное применение



Осторожно!
Обратитесь к инструкции по
применению



Содержимого
достаточно для проведения п-
количества тестов



Использовать до



Обратитесь к
инструкции по применению



Не допускать
воздействия солнечного света

В настоящем документе прошито,
пронумеровано и скреплено
печатью



Рос. пятнадцать лист 06
Генеральный директор ООО
«Система-БиоТех»
Наталья Позднякова